

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2000-146896

(43)Date of publication of application : 26.05.2000

---

(51)Int.Cl. G01N 27/327  
G01N 27/26  
G01N 27/30  
G01N 27/27  
G01N 27/416

---

(21)Application number : 11-186576

(71)Applicant : NEC CORP

(22)Date of filing : 30.06.1999

(72)Inventor : MATSUMOTO TATSU

(30)Priority

Priority number : 10249731

Priority date : 03.09.1998

Priority country : JP

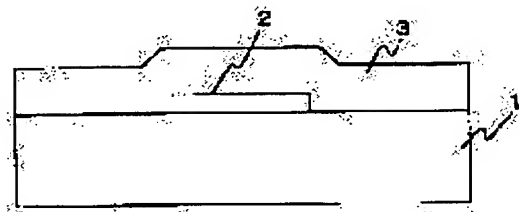
---

(54) REFERENCE ELECTRODE, AND BIOSENSOR AND MEASURING INSTRUMENT USING IT

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide an electrode resistant to chemicals, having a highly durable layer structure, and minimized in damage by long-term use by covering the electrode with a protecting layer consisting of a vinyl polymer containing no fluorine to which a pendant group containing at least a fluoroalkylene block in a specified ratio is bonded.

SOLUTION: A reference electrode 2 is provided on an insulating substrate 1, and a protecting layer 3 consisting of a polyfluoroalcohol ester of metacrylate resin is formed thereon. As the material of the insulating substrate 1, those having high insulating property and excellent in water resistance, heat resistance and chemical resistance such as ceramics or glass are used. The electrode 2 is desirably formed of a silver/silver chloride electrode easy to form on the insulating substrate 1 and easy to handle. The protecting layer 3 is formed of a vinyl polymer containing no fluorine to which a pendant group containing at least a fluoroalkylene block is bonded, and when the number of fluorine atoms in the pendant group is (x), and the number of hydrogen atoms is (y), the fluorine content  $x/(x+y)$  is 0.3-1.



---

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

30.06.1999

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or

application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number] 3214562

[Date of registration] 27.07.2001

[Number of appeal against examiner's decision  
of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's  
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2000-146896 ✓

(P2000-146896A)

(43) 公開日 平成12年5月26日 (2000.5.26)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テマコード* (参考)
G 0 1 N 27/327		G 0 1 N 27/30	3 5 3 B
27/26	3 7 1	27/26	3 7 1 D
			3 7 1 B
			3 7 1 C
27/30	3 1 1	27/30	3 1 1 Z
審査請求 有 請求項の数55 O L (全 24 頁) 最終頁に続く			

(21) 出願番号 特願平11-186576

(22) 出願日 平成11年6月30日 (1999.6.30)

(31) 優先権主張番号 特願平10-249731

(32) 優先日 平成10年9月3日 (1998.9.3)

(33) 優先権主張国 日本 (J P)

(71) 出願人 000004237

日本電気株式会社

東京都港区芝五丁目7番1号

(72) 発明者 松本 達

東京都港区芝五丁目7番1号 日本電気株式会社内

(74) 代理人 100088328

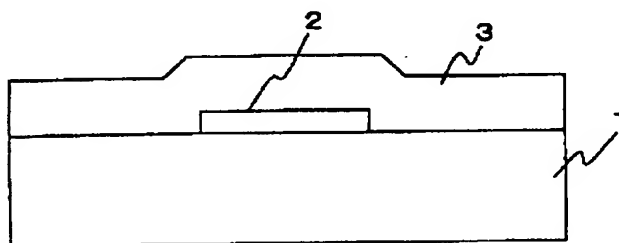
弁理士 金田 暢之 (外2名)

(54) 【発明の名称】 参照電極およびそれを用いたバイオセンサ、測定器

(57) 【要約】

【課題】 参照電極の長期安定性を改善する。

【解決手段】 絶縁基板1上に電極2を形成し、その上にメタクリル酸樹脂のポリフルオロアルコールエステル層からなる保護層3を形成する。



1 絶縁基板

2 電極

3 保護層

## 1

## 【特許請求の範囲】

【請求項 1】 絶縁基板上に設けられた電極と、該電極を覆うように形成された保護層とを有し、該保護層は、フッ素を含まないビニル系重合体に対し、少なくともフルオロアルキレンブロックを含有するペンダント基が結合したポリマーから主としてなることを特徴とする参照電極。

【請求項 2】 前記ビニル系重合体は、不飽和炭化水素、不飽和カルボン酸、および不飽和アルコールからなる群より選ばれた一種以上のモノマーの単独重合体または共重合体であることを特徴とする請求項 1 に記載の参照電極。

【請求項 3】 前記ビニル系重合体は、ポリカルボン酸であることを特徴とする請求項 1 に記載の参照電極。

【請求項 4】 前記ビニル系重合体に対し前記フルオロアルキレンブロックがエステル基を介して結合したことを特徴とする請求項 1 乃至 3 いずれかに記載の参照電極。

【請求項 5】 前記ペンダント基中に含まれるフッ素原子数を  $x$ 、前記ペンダント基中に含まれる水素原子数を  $y$  としたときに、 $x/(x+y)$  で表される前記ペンダント基のフッ素含有率が、0.3～1であることを特徴とする請求項 1 乃至 4 いずれかに記載の参照電極。

【請求項 6】 前記ペンダント基の炭素数が 3～15であることを特徴とする請求項 1 乃至 5 いずれかに記載の参照電極。

【請求項 7】 前記ポリマーの分子量が、1000～50000である請求項 1 乃至 6 いずれかに記載の参照電極。

【請求項 8】 絶縁基板上に設けられた電極と、該電極を覆うように形成された保護層とを有し、該保護層は、ポリカルボン酸 (A) のフルオロアルコールエステルから主としてなることを特徴とする参照電極。

【請求項 9】 絶縁基板上に設けられた電極と、該電極を覆うように形成された保護層とを有し、該保護層は、ポリカルボン酸 (A) のフルオロアルコールエステルと、ポリカルボン酸 (B) のアルキルアルコールエステルとを含んでなることを特徴とする参照電極。

【請求項 10】 前記ポリカルボン酸 (B) が、ポリメタクリル酸、ポリアクリル酸、またはアクリル酸とメタクリル酸の共重合体であることを特徴とする請求項 9 に記載の参照電極。

【請求項 11】 前記ポリカルボン酸 (B) のアルキルアルコールエステルは、ポリカルボン酸 (B) のカルボキシル基の少なくとも一部が、炭素数 2～10 のアルキルアルコールによりエステル化されてなるエステル化合物であることを特徴とする請求項 9 または 10 に記載の参照電極。

【請求項 12】 前記ポリカルボン酸 (B) のアルキルアルコールエステルは、ポリメタクリル酸シクロヘキシ

## 2

ルであることを特徴とする請求項 11 に記載の参照電極。

【請求項 13】 前記ポリカルボン酸 (A) が、ポリメタクリル酸、ポリアクリル酸、またはアクリル酸とメタクリル酸の共重合体であることを特徴とする請求項 8 乃至 12 いずれかに記載の参照電極。

【請求項 14】 前記ポリカルボン酸 (A) のフルオロアルコールエステルに含まれるフルオロアルコールエステル基中のフッ素原子数を  $x$ 、水素原子数を  $y$  としたときに、 $x/(x+y)$  で表される前記フルオロアルコールエステル基のフッ素含有率が、0.3～1であることを特徴とする請求項 8 乃至 13 いずれかに記載の参照電極。

【請求項 15】 前記ポリカルボン酸 (A) のフルオロアルコールエステルに含まれるフルオロアルコールエステル基を構成するフルオロアルコールの炭素数が 3～15であることを特徴とする請求項 8 乃至 14 いずれかに記載の参照電極。

【請求項 16】 前記ポリカルボン酸 (A) のフルオロアルコールエステルに含まれるフルオロアルコールエステル基を構成するフルオロアルコールは、一級アルコールであることを特徴とする請求項 8 乃至 15 いずれかに記載の参照電極。

【請求項 17】 前記ポリカルボン酸 (A) のフルオロアルコールエステルは、ポリメタクリル酸 1H、1H-パーフルオロオクチルであることを特徴とする請求項 16 に記載の参照電極。

【請求項 18】 前記ポリカルボン酸 (A) のフルオロアルコールエステルは、ポリアクリル酸 1H、1H、2H、2H-パーフルオロデシルであることを特徴とする請求項 16 に記載の参照電極。

【請求項 19】 前記ポリカルボン酸 (A) のフルオロアルコールエステルの分子量が、1000～50000である請求項 8 乃至 18 いずれかに記載の参照電極。

【請求項 20】 絶縁基板上に設けられた電極と、該電極を覆うように形成された保護層とを有し、該保護層は、アルキルアルコールエステル基およびフルオロアルコールエステル基を有するポリカルボン酸エステル化合物から主としてなることを特徴とする参照電極。

【請求項 21】 前記フルオロアルコールエステル基中のフッ素原子数を  $x$ 、水素原子数を  $y$  としたときに、 $x/(x+y)$  で表される前記フルオロアルコールエステル基のフッ素含有率が、0.3～1であることを特徴とする請求項 20 に記載の参照電極。

【請求項 22】 前記フルオロアルコールエステル基を構成するフルオロアルコールの炭素数が 3～15であることを特徴とする請求項 20 または 21 に記載の参照電極。

【請求項 23】 前記フルオロアルコールエステル基を構成するフルオロアルコールは、一級アルコールである

ことを特徴とする請求項 20 乃至 22 いずれかに記載の参照電極。

【請求項 24】 前記フルオロアルコールエステル基は、ポリメタクリル酸 1H、1H-パーフルオロオクチルであることを特徴とする請求項 23 に記載の参照電極。

【請求項 25】 前記フルオロアルコールエステル基は、ポリアクリル酸 1H、1H、2H、2H-パーフルオロデシル基であることを特徴とする請求項 23 に記載の参照電極。

【請求項 26】 前記アルキルアルコールエステル基の炭素数が 2～10 であることを特徴とする請求項 20 乃至 25 いずれかに記載の参照電極。

【請求項 27】 前記アルキルアルコールエステル基は、ポリメタクリル酸シクロヘキシルであることを特徴とする請求項 26 に記載の参照電極。

【請求項 28】 前記電極が、銀／塩化銀電極である請求項 1 乃至 27 いずれかに記載の参照電極。

【請求項 29】 前記銀／塩化銀電極が、チタン、銀、および塩化銀がこの順に設けられた積層体、またはチタン、白金、銀、および塩化銀がこの順に設けられた積層体からなることを特徴とする請求項 28 に記載の参照電極。

【請求項 30】 前記保護層の厚みが、0.01～3  $\mu$ m である請求項 1 乃至 29 いずれかに記載の参照電極。

【請求項 31】 前記電極と前記保護層との間に、シランカップリング剤から主としてなる結合層を有することを特徴とする請求項 1 乃至 30 いずれかに記載の参照電極。

【請求項 32】 請求項 1 乃至 31 いずれかに記載の参照電極を備えたことを特徴とするバイオセンサ。

【請求項 33】 尿中のグルコースの測定に使用されることを特徴とする請求項 32 に記載のバイオセンサ。

【請求項 34】 請求項 32 または 33 に記載のバイオセンサと、該バイオセンサから得られた電気信号を報知するデータ報知部とを有してなることを特徴とする測定器。

【請求項 35】 請求項 32 または 33 に記載のバイオセンサと、該バイオセンサから電気信号を得る電気化学測定回路部と、該電気信号をもとに測定値を算出するデータ処理部と、該測定値を報知するデータ報知部とを有してなることを特徴とする測定器。

【請求項 36】 前記データ処理部は、(a) 計時手段、(b) 測定時刻を設定する時刻設定手段および該時刻設定手段で設定した時刻になったことを報知する時刻報知手段、(c) 測定器の操作方法を説明する操作説明手段、(d) 算出した測定値を記憶する測定値記憶手段、(e) 測定器の使用者の暗証番号を登録する暗証番号登録手段、(f) メモを登録するメモ登録手段、

(g) 測定器の誤作動を検出する動作報知手段、(h)

前記バイオセンサの較正時期を検出し報知する較正時期報知手段、(i) 前記バイオセンサの電極部分の交換時期を検出し報知する電極交換時期報知手段、(j) 異常電流値を検出し報知する異常電流値報知手段、および (k) 前記バイオセンサの較正を行う較正手段のうち、一部または全部を含むことを特徴とする請求項 35 に記載の測定器。

【請求項 37】 前記データ報知部は、前記データ処理部により算出された測定値のほか、さらに、(a) ～

10 (k) のうちまたは二以上の手段により得られた処理結果を報知することを特徴とする請求項 36 に記載の測定器。

【請求項 38】 前記時刻設定手段で設定できる時刻が複数であることを特徴とする請求項 36 または 37 に記載の測定器。

【請求項 39】 前記暗証番号登録手段は複数の暗証番号を登録できることを特徴とする請求項 36 乃至 38 いずれかに記載の測定器。

20 【請求項 40】 前記測定値記憶手段は複数の測定値を記憶できることを特徴とする請求項 36 乃至 39 いずれかに記載の測定器。

【請求項 41】 前記メモ登録手段は、予め登録したメモ群を呼び出すメモ項目手段と、呼び出したメモ群から登録したいメモ項目を選択するメモ選択手段と、メモ選択手段で選択したメモを呼び出すメモ呼び出し手段とを備え、登録できるメモが複数であることを特徴とする請求項 36 乃至 40 いずれかに記載の測定器。

【請求項 42】 温度センサをさらに有し、該温度センサで測定された、測定試料または測定環境の温度を用いて、前記測定値が補正されることを特徴とする請求項 36 乃至 41 いずれかに記載の測定器。

【請求項 43】 pHセンサをさらに有し、該 pHセンサで測定された測定試料の pH 値を用いて前記測定値が補正されることを特徴とする請求項 36 乃至 42 いずれかに記載の測定器。

【請求項 44】 前記データ処理部に接続された通信処理部をさらに有し、該通信処理部により、前記データ処理部で得られたデータが、測定器の外部に転送されることを特徴とする請求項 36 乃至 43 いずれかに記載の測定器。

【請求項 45】 前記データ処理部に接続された印刷部をさらに有し、該印刷部により、前記データ処理部で得られたデータが印刷されることを特徴とする請求項 36 乃至 44 いずれかに記載の測定器。

【請求項 46】 前記データ処理部に接続された外部記憶部をさらに有し、該外部記憶部により、前記データ処理部で得られたデータが保存されることを特徴とする請求項 36 乃至 45 いずれかに記載の測定器。

【請求項 47】 前記外部記憶部は、脱着可能な記憶媒体を利用するものであることを特徴とする請求項 46 に

記載の測定器。

【請求項 48】 前記記憶媒体が、半導体記憶媒体、磁気記憶媒体、または光学的記憶媒体であることを特徴とする請求項 47 に記載の測定器。

【請求項 49】 前記データ報知部の報知方法が、デジタル数値、アナログ数値、図形、音声、音、振動、熱、または光であることを特徴とする請求項 34 乃至 48 いずれかに記載の測定器。

【請求項 50】 前記バイオセンサが着脱自在に設けられたことを特徴とする請求項 34 乃至 49 いずれかに記載の記載の測定器。

【請求項 51】 絶縁基板上に電極を形成する工程と、該電極に直接、または他の層を介して、フッ素を含まないビニル系重合体に対し少なくともフルオロアルキレンブロックを含有するペンダント基が結合したポリマーを含む液を塗布した後、乾燥させ、保護層を形成する工程とを含むことを特徴とする参照電極の製造方法。

【請求項 52】 前記電極を形成した後、シランカップリング剤から主としてなる結合層を形成し、次いで前記保護層を形成することを特徴とする請求項 51 に記載の参照電極の製造方法。

【請求項 53】 前記ポリマーを含む液をスピンコート法により塗布することを特徴とする請求項 51 または 52 に記載の参照電極の製造方法。

【請求項 54】 ディップ法により前記ポリマーを含む液を塗布した後、窒素ガスを吹き付けながら乾燥を行うことを特徴とする請求項 51 または 52 に記載の参照電極の製造方法。

【請求項 55】 前記保護層の厚みを、乾燥後において 0.01～3 μm とすることを特徴とする請求項 51 乃至 54 いずれかに記載の参照電極の製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、溶液中の特定の化学物質を酵素反応等を利用して電気化学的に測定する際に使用される参照電極およびこれを用いたバイオセンサに関する。

【0002】

【従来の技術】従来の参照電極の構造を図 4 を用いて説明する。この図は特開平 9-182738 号公報に開示された参照電極の断面図および上面図である。図 4

(a) を参照すると、カソード膜 K の上に、ポリイミド層 P I 1、アノード膜 M、銀層 S がこの順で形成されている。銀層 S は参照電極の役割を有し、その上に保護層としてポリイミド層 P I 2 が設けられている。保護層として、ポリイミド層 P I 2 の代わりに撥水性のホトレジストを設けてもよいとされている。参照電極の上にこのような保護層を設けることにより、電極が長寿命化することが記載されている。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】しかしながら上記参照電極では、十分に長い使用寿命を得ることは困難であった。これは、参照電極の表面の一部が電解液に直接触れており、表面に形成されている塩化銀が電解液中で解離し易いことによるものである。本発明者の検討によれば、上記構造の参照電極が当初の性能を維持して動作する期間は、通常、約 2 日間程度である。

【0004】また上記参照電極において、保護層の材料に撥水性のホトレジストを用いた場合、製造工程が複雑となって生産コストが高くなり、この点で改善の余地を有していた。これは、ホトレジストの形成のため、フォトリソグラフィ技術を用い露光および現像を繰り返す工程を必要とし、さらに、電解質を注入する電解液注入口や電解液の注入時に生じる気泡を取り除く貫通孔を形成しておく必要があるためである。

【0005】さらに、上記参照電極をバイオセンサに適用した場合、測定試料中に含まれる汚染物質が表面に付着し、感度が低下するという問題があった。これについて、以下、説明する。

【0006】バイオセンサは、溶液中の化学物質を酵素の触媒機能により過酸化水素等に変換し、これを酸化還元反応により計測するという機能を有するセンサである。バイオセンサの特性を安定化し、使用寿命を長くするためには、干渉物質および汚染物質の影響を排除することが重要である。干渉物質とは、上述の酸化還元反応系に影響を与え測定結果に正誤差を生じさせる化学物質であり、アスコルビン酸やアセトアミノフェン等がある。一方、汚染物質とは、電極表面に吸着して測定結果に負誤差を生じる化学物質であり、たとえば、アルブミンや尿素、尿素化合物、クレアチニン等がある。

【0007】ところが上記従来技術に係る参照電極は、保護層の材料としてポリイミドないしホトレジストを用いていたため、保護層表面に汚染物質が付着し易く、長期使用した際の感度の低下を免れることが困難であった。

【0008】

【課題を解決するための手段】上記課題を解決する本発明によれば、絶縁基板上に設けられた電極と、該電極を覆うように形成された保護層とを有し、該保護層は、フッ素を含まないビニル系重合体に対し、少なくともフルオロアルキレンブロックを含有するペンダント基が結合したポリマーから主としてなることを特徴とする参照電極が提供される。

【0009】すなわち本発明の参照電極は、絶縁基板上に設けられた電極（電極層）と、この電極上に設けられた種々の機能を有する複数の層からなっている。

【0010】本発明において、参照電極とは、作用極の電極電位を測定する際の基準となる電極をいう。本発明の参照電極は、溶液中の特定の化学物質を、酵素反応を用いて電気化学的に測定する際に好適に用いられ、バイ

オセンサ等の一部として好適に用いられる。

【0011】本発明において、保護層を構成するポリマーは、フルオロアルキレンブロック（フルオロアルキレン単位）を含有するペンダント基を有している。このため、タンパク質や尿素化合物等の汚染物質の付着が抑制され、長期使用した場合にも安定した特性を示す参照電極が得られる。またフルオロアルキレンはほとんどの非フッ素系溶剤や界面活性剤等の洗浄剤に溶けることがないため、耐薬品性の良好な参照電極が得られる。

【0012】また、このポリマーはフッ素を含まないビニル系重合体を主鎖とするため、電極や電極上に形成された他の有機高分子層との密着性が良好である。このため、電極やその表面に形成された有機高分子層等と保護層との間に間隙が生じることがない。したがって、電極部表面が電解液に触れることがなく、電極部分を構成する金属が電解液に溶出することを防ぐことができる。また、参照電極の洗浄に要する時間を短縮化することができるという利点も得られる。

【0013】さらに、電極等との密着性が良好なため、層構造の耐久性が向上し、長期使用した場合にも損傷の起こりにくい参照電極が得られる。

【0014】ここで、上記フルオロアルキレンブロックを含有するペンダント基以外に、他の適当な側鎖、官能基が結合していてもよい。たとえば-OH基、-COOH基等の適度な極性を有する官能基を有することによって、隣接する電極や有機高分子層との密着性をさらに高めることができる。

【0015】また本発明における保護層は、ディップ法、スピンコート法、スプレー法等の簡単な工程で均質な薄膜を製造することが可能であり、量産性にも優れている。また、本発明によれば、絶縁基板上に設けられた電極と、該電極を覆うように形成された保護層とを有し、該保護層は、ポリカルボン酸（A）のフルオロアルコールエステルから主としてなることを特徴とする参照電極が提供される。

【0016】また本発明によれば、絶縁基板上に設けられた電極と、該電極を覆うように形成された保護層とを有し、該保護層は、ポリカルボン酸（A）のフルオロアルコールエステルと、ポリカルボン酸（B）のアルキルアルコールエステルとを含んでなることを特徴とする参照電極が提供される。

【0017】さらに本発明によれば、絶縁基板上に設けられた電極と、該電極を覆うように形成された保護層とを有し、該保護層は、アルキルアルコールエステル基およびフルオロアルコールエステル基を有するポリカルボン酸エステル化合物から主としてなることを特徴とする参照電極が提供される。

【0018】これらの参照電極は、絶縁基板上に設けられた電極（電極層）と、この電極上に設けられた種々の機能を有する複数の層からなっており、保護層が、特定

構造からなるポリマーにより構成されていることを特徴としている。

【0019】本発明の参照電極は、保護層の構成材料としてポリカルボン酸のフルオロアルコールエステルを用いている。ここで、ポリカルボン酸のフルオロアルコールエステルとは、ポリカルボン酸のカルボキシル基の一部、または全部をフルオロアルコールでエステル化したものである。またフルオロアルコールとはアルコール中の水素のすべて、または少なくとも一つをフッ素に置き換えたものである。

【0020】上記保護層の構成材料は、フルオロアルコールエステル基を有するため、タンパク質や尿素化合物等の汚染物質の付着が抑制され、長期使用した場合にも安定した特性を示す参照電極が得られる。またフルオロアルコールエステル基はほとんどの非フッ素系溶剤や界面活性剤等の洗浄剤に溶けることがないため、耐薬品性の良好な参照電極が得られる。

【0021】本発明の参照電極は、保護層にポリカルボン酸主鎖を有するポリマーを用いている。また、この主鎖に対してフルオロアルコールがエステル基を介して結合している。このため電極や電極上に形成された有機高分子層等との密着性が良好であり、これらと保護層との間に間隙が生じることがない。したがって、電極部表面が電解液に触れることがなく、電極部分を構成する金属が電解液に溶出することを防ぐことができる。また、参照電極の洗浄に要する時間を短縮化することができるという利点も得られる。

【0022】さらに、電極等との密着性が良好なため、層構造の耐久性が向上し、長期使用した場合にも損傷の起こりにくい参照電極が得られる。

【0023】上記ポリカルボン酸からなる主鎖に対し、フルオロアルコールエステル基以外の適当な官能基が結合していてもよい。適度な極性を有する官能基を有することによって、隣接する電極や電極上に形成された有機高分子層等との密着性をさらに高めることができる。

【0024】また、保護層を、ポリカルボン酸（A）のフルオロアルコールエステルと、ポリカルボン酸

（B）のアルキルアルコールエステルとを含んでなる構成、あるいは「アルキルアルコールエステル基およびフルオロアルコールエステル基を有するポリカルボン酸エステル化合物から主としてなる構成とした場合、上述の効果に加え、高温時の安定性が良好になるという利点が得られる。参照電極やこれを含むバイオセンサは、比較的高温下（たとえば40℃程度）で保管・使用されることがある。通常の参照電極は、高温下に放置した後、測定に使用すると、放置前に測定したときに比べ、測定感度が著しく変動することが多かった。これに対し上記構成の保護層を備えた参照電極およびバイオセンサは、高温下に放置しても測定感度がほとんど変化せず、安定性に優れている。

【0025】以上述べた本発明の参照電極において、電極と保護層とは、直接、接するように形成されていてもよいし、これらの間に他の層が介在してもよい。たとえば、電極と保護層の間にシランカップリング剤から主としてなる結合層を有する構成とすることもできる。

【0026】なお本発明における保護層は、ディップ法、スピンコート法、スプレー法等の簡単な工程で均質な薄膜を製造することが可能であり、量産性にも優れている。また本発明によれば、上記の参照電極を用いたバイオセンサが提供される。このバイオセンサは、参照電極表面に上述した特有の構造を有するポリマーからなる保護層を設けているため、長期安定性に優れ、広範囲な測定条件下で使用する事が可能である。

【0027】さらに本発明によれば、上記バイオセンサを用いた種々の測定器が提供される。すなわち、本発明によれば、上記バイオセンサと、該バイオセンサから得られた電気信号を報知するデータ報知部とを有してなることを特徴とする測定器が提供される。

【0028】また、上記バイオセンサと、該バイオセンサから電気信号を得る電気化学測定回路部と、該電気信号をもとに測定値を算出するデータ処理部と、該測定値を報知するデータ報知部とを有してなることを特徴とする測定器が提供される。

【0029】これらの測定器は、特定構造の作用極を具備するバイオセンサを有しているため、長期安定性に優れ、広範囲な測定条件下で使用する事が可能である。その上、操作方法が簡便であり、装置に不慣れな人でも簡単に扱うことができる。

【0030】また本発明によれば、絶縁基板上に電極を形成する工程と、該電極に直接、または他の層を介して、フッ素を含まないビニル系重合体に対し少なくともフルオロアルキレンブロックを含有するペンダント基が結合したポリマーを含む液を塗布した後、乾燥させ、保護層を形成する工程とを含むことを特徴とする参照電極の製造方法が提供される。

【0031】この参照電極の製造方法は、上記のような特定構造のポリマーを含む液を塗布・乾燥することにより保護層を形成する。このため、繰り返し測定時における安定性、隣接する層との密着性、耐久性等に優れる保護層を、良好な膜厚制御性で形成することができる。また、上記ポリマーを含む液は低粘度であるので、保護層を容易に薄い膜厚で形成することができる。具体的には、乾燥後において0.01~3μmの保護層を良好に形成することができる。

【0032】

【発明の実施の形態】本発明において、「参照電極」とは、前述したように作用極の電位測定の際に基準となる電極をいう。本発明における「バイオセンサ」は、上記参照電極を備えるものであって、通常、作用極、対極をさらに含む構成とする。また、本発明における「測定

器」とは、上記バイオセンサを含むシステムをいい、バイオセンサから得られた電気信号を報知したり処理を行う種々の手段を備えたものをいう。以下、本発明に係る参照電極、バイオセンサ、および測定器について詳細に説明する。

【0033】本発明に係る第一の参照電極は、絶縁基板上に設けられた電極と、該電極を覆うように形成された保護層とを有し、該保護層は、フッ素を含まないビニル系重合体に対し、少なくともフルオロアルキレンブロックを含有するペンダント基が結合したポリマーから主としてなることを特徴とする。ここで、「主としてなる」とは、上記ポリマーが保護層を構成する主成分となっていることをいい、たとえば、保護層に対する上記ポリマーの含有率が50重量%以上であることをいう。

【0034】「フッ素を含まないビニル系重合体」は、電極や電極上に形成された有機高分子層等との密着性を良好にする役割を有する部分であり、特に構造の制限はないが、フッ素を含むものであつてはならない。ペンダント基を除く重合体部分にフッ素を含むと、電極や電極上に形成された有機高分子層等との密着性が低下し、溶液の調整が困難となり、保護層を薄膜として形成することが困難になる。

【0035】フッ素を含まないビニル系重合体は、炭素-炭素結合からなる主骨格を有する重合体であり、好ましい例としては、不飽和炭化水素、不飽和カルボン酸、および不飽和アルコールからなる群より選ばれた一種以上のモノマーの単独重合体または共重合体が挙げられる。このうち特にポリカルボン酸が好ましい。このような重合体を選択することによって、電極や電極上に形成された有機高分子層等との密着性が特に良好となり、耐久性に優れる保護層を得ることができる。また、ビニル系重合体に対し、フルオロアルキレンブロックがエステル基を介して結合していることが好ましい。エステル基は適度な極性を有しているため、電極や電極上に形成された有機高分子層等との密着性がより向上する。

【0036】フルオロアルキレンブロックを含有するペンダント基とは、フルオロアルキレンを構成単位として含有するペンダント基をいう。フルオロアルキレンとは、アルキレン基の水素の一部または全部をフッ素で置換したものをいう。ペンダント基のフッ素含有率、すなわち、ペンダント基中に含まれるフッ素原子数をx、ペンダント基中に含まれる水素原子数をyとしたときの $x/(x+y)$ の値は、好ましくは0.3~1、さらに好ましくは0.8~1とする。このようにすることによって保護層に対する汚染物質の付着が効果的に抑制される。

【0037】ペンダント基の炭素数は、好ましくは3~15、さらに好ましくは5~10、もっとも好ましくは8~10とする。このようにすることによってペンダント基の長さが適度となり、良好な製膜性が得られると

もに汚染物質等の付着が効果的に防止される。また、隣接する電極や高分子層との密着性も良好に維持される。

【0038】ビニル系重合体に対するペンダント基の結合率、すなわちペンダント基の含有率は特に制限がなく、他の高分子層材料や用途に応じて適宜な値とすることができる。たとえば、0.1～30%とする。このように撥水性を有するペンダント基の含有比率を適度な範囲とすることで、電極表面の保護性能が良好となり、また、隣接高分子層に対する良好な密着性が得られる。ここでペンダント基の結合率とは、ビニル系重合体の主骨格となる炭素-炭素結合に結合するすべての基に対するペンダント基の占める割合をいう。たとえば、主鎖となるビニル系重合体がポリアクリル酸であって、 $-COOH$ 基の10%がエステル化されペンダント基となっている場合は、 $-COOH$ 基の結合率25%にエステル化率10%を乗じて得られる2.5%がペンダント基の結合率となる。

【0039】本発明に係る第二の参照電極は、絶縁基板上に設けられた電極と、該電極を覆うように形成された保護層とを有し、該保護層は、ポリカルボン酸のフルオロアルコールエステル(A)から主としてなることを特徴とする。なお、「主としてなる」とは、上記ポリマーが保護層を構成する主成分となっていることをいい、たとえば、保護層に対する上記ポリマーの含有率が50重量%以上であることをいう。

【0040】また、本発明に係る第三の参照電極は、絶縁基板上に設けられた電極と、該電極を覆うように形成された保護層とを有し、該保護層は、ポリカルボン酸(A)のフルオロアルコールエステルと、ポリカルボン酸(B)のアルキルアルコールエステルとを含んでなることを特徴とする。

【0041】また、本発明に係る第四の参照電極は、絶縁基板上に設けられた電極と、該電極を覆うように形成された保護層とを有し、該保護層は、アルキルアルコールエステル基およびフルオロアルコールエステル基を有するポリカルボン酸エステル化合物から主としてなることを特徴とする。なお、「主としてなる」とは、上記ポリマーが保護層を構成する主成分となっていることをいい、たとえば、保護層に対する上記ポリマーの含有率が50重量%以上であることをいう。

【0042】ポリカルボン酸(A)、(B)および上記ポリカルボン酸エステル化合物を構成するポリカルボン酸は、アクリル酸、メタクリル酸、フマル酸、イタコン酸等のカルボン酸を構成単位を有する重合体をいう。たとえばポリメタクリル酸、ポリアクリル酸またはこれらの共重合体等が挙げられる。ポリカルボン酸(A)とポリカルボン酸(B)は、同種のものであっても異種のものであってもよい。

【0043】ポリカルボン酸とは、アクリル酸、メタクリル酸、フマル酸、イタコン酸等のカルボン酸を構成単

位を有する重合体をいい、たとえばポリメタクリル酸またはポリアクリル酸等が挙げられる。

【0044】フルオロアルコールエステル基中に含まれるフッ素原子数をx、水素原子数をyとしたときに、 $x/(x+y)$ で表される前記フルオロアルコールエステル基のフッ素含有率は、好ましくは0.3～1、さらに好ましくは0.8～1とする。このようにすることによって保護層に対する汚染物質の付着が効果的に抑制される。

10 【0045】フルオロアルコールエステルを構成するフルオロアルコールの炭素数は、好ましくは3～15、さらに好ましくは5～10、最も好ましくは8～10とする。このようにすることによってペンダント基の長さが適度となり、良好な製膜性が得られるとともに汚染物質等の付着が効果的に防止される。また、隣接する電極や高分子層との密着性も良好に維持される。

【0046】ポリカルボン酸のフルオロアルコールエステルのエステル化率は特に制限がなく、他の高分子層材料や用途に応じて適宜な値とすることができる。たとえば、0.1～30%とする。エステル化率とは、主鎖のポリアクリル酸の有するカルボキシル基がエステル化された割合をいう。エステル化率を上記の範囲とすることで、撥水性を有するフルオロアルコールエステル基の含有率が適度となり、保護層に対する汚染物質の付着が効果的に抑制される一方、電極部分や有機高分子層等に対する密着性が良好に維持される。

【0047】本発明において、前記フルオロアルコールエステルを構成するフルオロアルコールは、一級アルコールであることが好ましい。保護層に対する汚染物質の付着が効果的に抑制され、また、酸、アルカリ、各種有機溶媒に対する高い耐薬品性が得られるからである。たとえばポリメタクリル酸1H、1H-パーフルオロオクチルやポリアクリル酸1H、1H、2H、2H-パーフルオロデシルを好ましく用いることができる。

【0048】保護層を、ポリカルボン酸(A)のフルオロアルコールエステルと、ポリカルボン酸(B)のアルキルアルコールエステルとを含んでなる構成、あるいは、アルキルアルコールエステル基およびフルオロアルコールエステル基を有するポリカルボン酸エステル化合物から主としてなる構成とすると、高温安定性の良好な参照電極が得られる。

【0049】「フルオロアルコールエステル」の好ましい形態については上述したとおりである。

【0050】アルキルアルコールエステル部分のアルキルアルコールとは、 $C_nH_{n+2}OH$ (nは自然数)で表される鎖状または環状のアルコールをいう。nは1以上の整数であるが、好ましくは2～10、より好ましくは4～8、最も好ましくは6である。たとえば、ヘキシル基、シクロヘキシル基等が好ましく用いられる。このようにすれば、参照電極を高温下に放置した場合の安定性

がさらに良好となる。

【0051】保護層を、ポリカルボン酸(A)のフルオロアルコールエステルと、ポリカルボン酸(B)のアルキルアルコールエステルとを含んでなる構成とする場合、保護層に対するポリカルボン酸(A)のフルオロアルコールエステルの含有率は、好ましくは50～99重量%、より好ましくは75～99重量%、最も好ましくは80～95重量%とする。含有率が低すぎると保護層の耐久性が低下する場合がある。また含有率が高すぎると高温下に放置した際の安定性が充分に得られない場合がある。一方、ポリカルボン酸(B)のアルキルアルコールエステルの保護層に対する含有率は、好ましくは1～50重量%、より好ましくは1～25重量%、最も好ましくは5～20重量%とする。含有率が低すぎると高温下に放置した際の安定性が充分に得られない場合がある。また含有率が高すぎると保護層の耐久性が低下する場合がある。なお、ポリカルボン酸(B)のアルキルアルコールエステルとは、ポリカルボン酸(B)の少なくとも一部が、上記アルキルアルコールによりエステル化されてなるものであり、好ましい例としてポリメタクリ

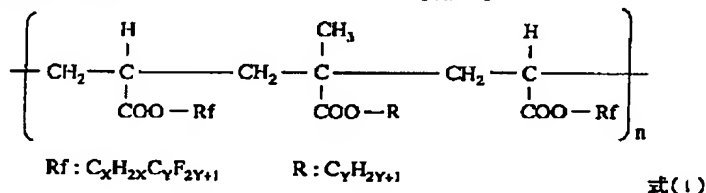
ル酸シクロヘキシルが挙げられる。

【0052】アルキルアルコールエステル基およびフルオロアルコールエステル基を有するポリカルボン酸エステル化合物を用いて保護層を構成する場合、各エステル基の好ましい形態は上述したとおりであり、その組み合わせとして種々の形態のものを採用することができる。アルキルアルコールエステル基とフルオロアルコールエステル基の比率は特に制限がないが、上記エステル化合物中のフルオロアルコールエステル基の数をa、アルキルアルコールエステル基の数をbとしたときのa/bの値は、好ましくは50/50～99/1、より好ましくは75/25～99/1、最も好ましくは80/20～95/5とする。

【0053】このようなポリカルボン酸エステル化合物の例として、たとえば下記式(1)に示す繰り返し単位を有する化合物が挙げられる。COO-R基をポリメタクリル酸シクロヘキシルとすれば、特に高温安定性が良好となる。また、電極保護性能も良好となる。

【0054】

【化1】



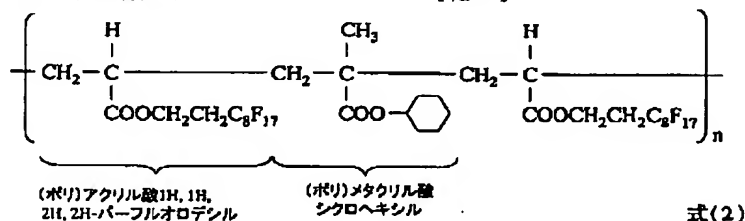
(nは2以上の整数、Xは0以上の整数、Yは1以上の整数を示す。)

このような化合物として、メタクリル酸1H、1H-パーフルオロオクチルとメタクリル酸シクロヘキシルの共重合体、あるいは、アクリル酸1H、1H、2H、2H-パーフルオロデシルとメタクリル酸シクロヘキシルの

共重合体等が挙げられる。たとえば下記式(2)のような、アクリル酸1H、1H、2H、2H-パーフルオロデシルとメタクリル酸シクロヘキシルの繰り返し単位を有する化合物が好ましく用いられる。

【0055】

【化2】



(nは2以上の整数を示す。)

以上のような共重合体を用いれば、高温安定性が特に良好となる上、電極保護性能等他の特性も良好となる。

【0056】以上述べたように、本発明の参照電極の保護層は特定構造のポリマーにより構成されるが、構造や分子量の異なる2種以上のポリマーの混合物により構成されていてもよい。

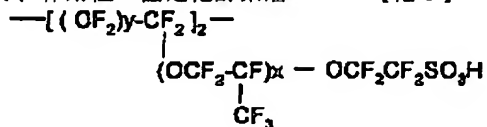
【0057】以上述べた参照電極において、保護層の厚みは、好ましくは0.01～3μm、さらに好ましくは0.01～1μm、最も好ましくは0.01～0.1μmとする。このような厚みとすることで、感度や応答性

の向上および洗浄時間の短縮化を図ることができる。

【0058】本発明において、保護層を構成するポリマーの分子量は、好ましくは1000～50000、さらに好ましくは3000～30000とする。ここでいう分子量とは数平均分子量をいい、GPC (Gel Permeation Chromatography) により測定される。分子量が大きすぎると溶液の調整が困難となり、保護層の薄層化が困難となることがある。分子量が小さすぎると汚染物質等の付着を充分に防止できないことがある。なお、保護層を、ポリカルボン酸(A)のフルオロアルコールエステルと、ポリカルボン酸(B)のアルキルアルコールエス

テルを含む構成とする場合は、いずれのポリマーも上記範囲の分子量とすることが望ましい。

【0059】以上説明したように本発明の参照電極はフッ素含有ポリマーを含んでなる保護層を備えているが、このフッ素含有ポリマーは、上述したような特定の構造を有している点に特徴があり、これにより、参照電極への汚染物質の付着を防止し、長期使用時における測定感度の安定性を高めている。バイオセンサにおけるフッ素含有ポリマーの利用技術として、作用極の固定化酵素層



式 (3)

しかしながら、ナフィオン膜は、電極反応に干渉するイオン性の干渉物質の透過を阻止することを目的とするものであって、参照電極を保護する機能はほとんど有していないのである。

【0061】本発明のバイオセンサに含まれる作用極は、酵素電極であることが望ましい。酵素電極とは、電極表面に固定化酵素層の形成された電極をいう。固定化酵素層とは、有機高分子を母材として、触媒機能をもつ酵素を固定化したものである。固定化酵素層は、例えば、各種酵素、グルタルアルデヒド等のタンパク質架橋剤、およびアルブミンを含む溶液を滴下し、スピニング法にて形成される。アルブミンは、各種酵素を架橋剤の反応から保護するとともにタンパク質の基材となる。酵素としては、乳酸酸化酵素、グルコース酸化酵素、尿酸酸化酵素、ガラクトース酸化酵素、ラクトース酸化酵素、スクロース酸化酵素、エタノール酸化酵素、メタノール酸化酵素、スターチ酸化酵素、アミノ酸酸化酵素、モノアミン酸化酵素、コレステロール酸化酵素、コリン酸化酵素およびビルビン酸酸化酵素等、触媒反応の生成物として過酸化水素を生成する、または酸素を消費する酵素が挙げられる。

【0062】ここで、2種類以上の酵素を同時に用いて過酸化水素を生成させてもよい。例えば、クレアチナーゼ、クレアチナーゼ、およびサルコシンオキシダーゼがこれに該当する。これらの酵素を用いることによってクレアチニンの検出が可能になる。また、酵素と補酵素を同時に用いてもよい。例えば、3-ヒドロキシ酪酸脱水素酵素とニコチンアミドアデニンジヌクレオチド (NAD) がこれに該当する。これらの酵素を用いることによって3-ヒドロキシ酪酸の検出が可能になる。さらに、酵素と電子メディエータを同時に用いてもよい。この場合は、酵素によって還元された電子メディエータが電極表面上で酸化され、このときに得られる酸化電流値を測定する。例えば、グルコースオキシダーゼとフェリシアン化カリウムがこれに該当する。これらを用いることによってグルコースの検出が可能になる。

上部にイオン交換樹脂であるナフィオン膜を配置する技術が知られている（特開平8-50112号公報）が、このような構造のポリマーでは、本発明の効果は得られない。ナフィオンとは、陽イオン交換樹脂であり、パーフルオロメチレン主鎖に、末端スルホン酸基を有するパーフルオロポリアルキレンエーテル側鎖を結合させた構造を有している（式(3)）。

【0060】

【化3】

【0063】以上述べたように、固定化酵素層は、少なくとも酵素を含み、測定対象物質を電極感応物質である過酸化水素等に変換する機能を持つ構成であれば、特に限定されない。

【0064】本発明の参照電極を用いたバイオセンサの例を図5に示す。この例では、石英基板上に作用極7、対極8、および参照極9とを備えている。作用極7および対極8は白金電極であり、参照極9は銀/塩化銀電極である。対極8の上部に、結合層4、保護層3がこの順で形成されている。作用極7および参照極9の上部に、結合層4、固定化酵素層10、および保護層3がこの順序で形成されている。結合層4はγ-アミノプロピルトリエトキシシランを主成分とする。固定化酵素層10は、少なくとも酵素を含み、測定対象物質を電極感応物質である過酸化水素等に変換する機能を持てばよい。また保護層3は、メタクリル酸樹脂のフルオロアルコールエステル層を主成分とする。作用極7、対極8、および参照極9はそれぞれ測定系に電気的に接続されている。このような構造をとることにより、バイオセンサの使用寿命を長くし、特性の安定化を図ることができる。なお、図ではアンペロメトリックタイプのセンサの例を示したが、本発明の参照電極は、イオン感受性電界効果型トランジスタタイプのセンサにも適用できることはいうまでもない。

【0065】本発明の測定器は、バイオセンサが着脱自在に設けられていることが好ましい。バイオセンサの電極部は使用により消耗するため、容易に交換できる構造とすることが望ましいからである。ここで、バイオセンサの部分のみが着脱自在になっている形態のほか、バイオセンサと他の部分とを接続する配線や、バイオセンサを含む部分が着脱自在になっている形態であってもよい。たとえば図6の構成の測定器において、バイオセンサ50と電気化学測定回路部51との間の配線54が着脱自在になっていてもよく、また、バイオセンサ50、配線54、および電気化学測定回路部51からなる部分が着脱自在になっていてもよい。

【0066】本発明の測定器におけるデータ処理部は、バイオセンサから得られた電気信号をもとに測定値を算出する機能を有しており、たとえば、上記電気信号をアナログ信号および／またはデジタル信号に変換し、測定値を算出するという形態で動作する。データ処理部は種々の手段を備えた構成とすることもでき、たとえば、

(a) 計時手段、(b) 測定時刻を設定する時刻設定手段および該時刻設定手段で設定した時刻になったことを報知する時刻報知手段、(c) 測定器の操作方法を説明する操作説明手段、(d) 算出した測定値を記憶する測定値記憶手段、(e) 測定器の使用者の暗証番号を登録する暗証番号登録手段、(f) メモを登録するメモ登録手段、(g) 測定器の誤作動を検出する動作報知手段、(h) 前記バイオセンサの校正時期を検出し報知する校正時期報知手段、(i) 前記バイオセンサの電極部分の交換時期を検出し報知する電極交換時期報知手段、

(j) 異常電流値を検出し報知する異常電流値報知手段、および(k) 前記バイオセンサの校正を行う校正手段のうち、一部または全部を含む構成とすることができる。このような構成とすることにより、操作性がさらに向上する。ここで、上記(a)～(k)のうち一または二以上の手段により得られた処理結果は、たとえば、報知部により報知されるものとする。

【0067】本発明の参照電極の製造方法は、絶縁基板上に電極を形成する工程と、該電極に直接、または他の層を介して、フッ素を含まないビニル系重合体に対し少なくともフルオロアルキレンブロックを含有するペンダント基が結合したポリマーを含む液を塗布した後、乾燥させ、保護層を形成する工程とを含むことを特徴とするものである。「フッ素を含まないビニル系重合体に対し、少なくともフルオロアルキレンブロックを含有するペンダント基が結合したポリマー」の好ましい実施形態等については、本発明に係る第一乃至第四の参照電極についての説明の部分で述べたのと同様であり、たとえば、ポリカルボン酸のフルオロアルコールエステルが例示され、ポリメタクリル酸1H、1H-パーフルオロオクチル、ポリアクリル酸1H、1H、2H、2H-パーフルオロデシル、あるいは、メタクリル酸1H、1H-パーフルオロオクチルとメタクリル酸シクロヘキシルの共重合体、アクリル酸1H、1H、2H、2H-パーフルオロデシルとメタクリル酸シクロヘキシルの共重合体等が挙げられる。

【0068】以下、図面を参照して本発明の実施形態についてさらに説明する。

【0069】(第1の実施の形態) 本実施形態について図1を参照して説明する。本実施形態の参照電極は、絶縁基板1上に参照電極として機能する電極2が設けられ、その上にメタクリル酸樹脂のポリフルオロアルコールエステルからなる保護層3が形成された構造を有している。

【0070】絶縁基板1の材料としては、セラミックス、ガラス、石英、プラスチック等の絶縁性の高い材料から主としてなるものを用いることができる。耐水性、耐熱性、耐薬品性および電極との密着性に優れた材料であることが好ましい。

【0071】電極2は、絶縁基板1上に形成しやすく、また、取り扱いが容易な銀／塩化銀電極とすることが望ましい。銀／塩化銀電極の構造としては、感度および強度が良好なことから、チタン、銀、および塩化銀がこの順に設けられた積層体、または、チタン、白金、銀、および塩化銀がこの順に設けられた積層体が好ましい。電極2は、スパッタリング法、イオンプレーティング法、真空蒸着法、ケミカル・ベーパー・ディポジッション法、電解法等を用いて形成することができる。たとえば銀／塩化銀電極は、まず銀膜をスパッタリング法により形成した後、銀よりもイオン化傾向の大きい塩素化合物を含む水溶液、たとえば塩化鉄水溶液に浸漬して電解法により作製することができる。

【0072】保護層3を構成するメタクリル酸樹脂のフルオロアルコールエステルとは、メタクリル酸樹脂の一部、または全部がフルオロアルコールでエステル化され、前記フルオロアルコールとはアルコール中の水素のすべて、または少なくとも一つがフッ素に置き換えられたものである。たとえばポリメタクリル酸1H、1H-パーフルオロオクチルやポリアクリル酸1H、1H、2H、2H-パーフルオロデシルを用いることができる。なお、本発明においては、たとえばポリメタクリル酸1H、1H-パーフルオロオクチルは、メタクリル酸の一部または全部が1H、1H-パーフルオロオクチルアルコールによりエステル化された重合体をいうものとする。

【0073】保護層3は、たとえば、パーフルオロヘキサン等のパーフルオロカーボンの溶媒で希釈したメタクリル酸樹脂のフルオロアルコールエステル溶液を、触媒機能をもつ酵素を固定化した固定化酵素層4上に滴下してスピンコート法により形成することができる。溶液中のメタクリル酸樹脂フルオロアルコールエステル濃度は、測定対象物質にもよるが、0.1～5重量%とすることが好ましく、0.3重量%程度とすることがさらに好ましい。この範囲とすることにより、良好な製膜性が得られるとともに汚染物質等の付着が効果的に防止される。

【0074】なお保護層3の形成方法については、均一な厚さの層が得られる方法であれば制限がなく、スピンコート法以外にもスプレーコート法やデップ法なども用いることができる。

【0075】(第2の実施の形態) 本実施形態について図2を参照して説明する。本実施形態の参照電極は、絶縁基板1上に参照電極として機能する電極2が設けられ、その上にγ-アミノプロピルトリエトキシシラン層

からなる結合層 4、メタクリル酸樹脂のポリフルオロアルコールエステル層からなる保護層 3 がこの順に形成された構造を有している。電極 2 と保護層 3 との間にシランカップリング剤から主としてなる結合層 4 を有する点に特徴がある。

【0076】保護層 3 は、第 1 の実施の形態と同様な方法により形成される。

【0077】結合層 4 は、電極 2 と保護層 3 の結合力を向上させる役割を有する。また絶縁基板 1 や電極 2 の表面を親水性に改質し、保護層 3 の層厚の均一性を高める作用も有する。

【0078】結合層 3 はシランカップリング剤から主としてなる。シランカップリング剤の種類としては、アミノシラン、ビニルシラン、エポキシシランが挙げられるが、このうち、密着性の観点から、アミノシランの一種である γ-アミノプロピルトリエトキシシランが好ましい。結合層 4 は、例えばシランカップリング剤溶液をスピンコートすることにより形成することができる。この際、シランカップリング剤濃度は、1 v/v% (体積/体積%) 程度とすることが好ましい。このような濃度とすることで良好な密着性が得られる。

【0079】(第 3 の実施の形態) 本実施形態について図 1 を参照して説明する。本実施形態の参照電極は、絶縁基板 1 上に参照電極として機能する電極 2 が設けられ、その上にアクリル酸樹脂のポリフルオロアルコールエステルとポリメタクリル酸シクロヘキシルから主としてなる保護層 3 が形成された構造を有している。保護層 3 と電極 2 との間には、必要に応じてシランカップリング剤から主としてなる結合層を設けてもよい。アクリル酸樹脂のポリフルオロアルコールエステルとは、例えば、ポリアクリル酸 1 H, 1 H, 2 H, 2 H-パーフルオロデシルを用いることができる。

【0080】保護層 3 は、例えば、キシレンヘキサフロライドを溶媒とするポリアクリル酸 1 H, 1 H, 2 H, 2 H-パーフルオロデシルとポリメタクリル酸シクロヘキシルの混合溶液を、電極 2 上に滴下してスピンコート法により形成することができる。このとき、混合溶液中のポリアクリル酸 1 H, 1 H, 2 H, 2 H-パーフルオロデシルの濃度は、測定対象物質にもよるが、0.1 ~ 5 重量% とすることが好ましく、1 重量% 程度とすることがさらに好ましい。またポリメタクリル酸シクロヘキシル濃度については、測定対象物質にもよるが、10 重量% 以下が好ましく、1 重量% 程度とすることがさらに好ましい。ポリアクリル酸 1 H, 1 H, 2 H, 2 H-パーフルオロデシルにこの濃度範囲のポリメタクリル酸シクロヘキシルを添加することにより、保護層の物理化学的特性が向上する。特に衝撃やキズ、およびねじれ等に対する強度が向上する。

【0081】(第 4 の実施の形態) 本実施形態は、本発明に係る参照電極の製造方法の一例を示すものである。

【0082】まず石英からなる基板上に、銀/塩化銀からなる電極を形成する。

【0083】次に電極表面および基板表面を洗浄する。洗浄方法としては、有機溶媒や酸等により洗浄する方法や超音波洗浄器を用いて洗浄する方法を用いることができ、これらを併用することもできる。有機溶媒や酸等としては、電極材料を損傷させないものが用いられる。有機溶媒としては極性溶媒が好ましく用いられ、アセトン等のケトン系溶媒、イソプロピルアルコール等のアルコール系溶媒を用いることができる。また、酸としては、希硫酸等が用いられる。このほか、電解カソード水を用いることもできる。電解カソード水とは、純水等を電気分解した際に陰極側に生成される液のことをいう。電解カソード水は中性~弱アルカリ性でありながら高い還元性を有するため、基板や電極の損傷を抑えつつ、基板表面および付着粒子の表面の電位をとともに負電位とすることができ、脱離粒子の再付着を抑制することができる。上記したうち、たとえば、アセトンおよび希硫酸で順次洗浄するという方法が好ましく用いられる。

【0084】次いで、電極の表面に結合層を形成する。前述のように、結合層を構成する材料としては、γ-アミノプロピルトリエトキシシラン等のシランカップリング剤が好ましく用いられる。

【0085】カップリング剤液等の塗布方法としては、スピンコート法、スプレー法、ディップ法、加熱気流法等が用いられる。スピンコート法とは、カップリング剤等、結合層の構成材料を溶解または分散させた液をスピンコーターにより塗布する方法である。この方法によれば膜厚の薄い結合層を膜厚制御性良く形成することができる。また、スプレー法とはカップリング剤液等を基板に向けてスプレー噴霧する方法であり、ディップ法とは基板をカップリング剤液等に浸漬する方法である。これらの方法によれば、特殊な装置を必要とせず、簡便な工程で結合層を形成することができる。また加熱気流法とは、基板を加熱雰囲気下に設置し、ここにカップリング剤液等の蒸気を流動させる方法である。この方法によっても膜厚の薄い結合層を膜厚制御性良く形成することができる。

【0086】カップリング剤液等の塗布後、乾燥を行う。乾燥温度は特に制限がないが、通常、室温 (25℃) ~ 170℃ の範囲で行う。乾燥時間は、温度にもよるが、通常は 0.5 ~ 24 時間とする。乾燥は空気中で行っても良いが、窒素等の不活性ガス中で乾燥させてもよい。たとえば、窒素を基板に吹き付けながら乾燥させる窒素ブロー法を用いることもできる。

【0087】結合層形成後、ポリカルボン酸のフルオロアルコールエステル溶液等を塗布し、保護層を形成する。上記溶液の塗布方法としては、スピンコート法、ディップ法、スプレー法、刷毛塗り法等が用いられ、このうち膜厚制御性に優れるスピンコート法が好ましく用い

られる。スピンコート法を用いた場合、 $0.01 \sim 3 \mu\text{m}$ 程度の薄膜からなる保護層を膜厚制御性良く形成することができる。また、基板を上記容積に浸漬するディップ法により塗布を行い、次いで窒素ガスを吹き付けながら乾燥を行う方法としてもよい。この方法によれば、簡便な方法で保護層を形成することができる。

【0088】上記溶液の塗布後、乾燥を行う。乾燥温度は、固定化酵素層の酵素の活性が損なわれない範囲の温度とすることが望ましく、室温（ $25^{\circ}\text{C}$ ）～ $40^{\circ}\text{C}$ の範囲とすることが好ましい。乾燥時間は、温度にもよるが、通常、 $0.5 \sim 24$ 時間とする。乾燥は空気中で行っても良いが、窒素等の不活性ガス中で乾燥させてもよい。たとえば、窒素を基板に吹き付けながら乾燥させる窒素ブロー法を用いることもできる。

【0089】以上のようにして、電極上に特定の機能を有する種々の層が形成された参照電極が作製される。

【0090】（第5の実施の形態）本発明に係るバイオセンサの例を図12に示す。このバイオセンサでは、同一の絶縁基板1上に作用極7、対極8および参照極9を形成されている。作用極7および対極8上には結合層4、固定化酵素層10、制限透過層11がこの順で積層している。また参照極9上には結合層4、保護層3がこの順で積層している。

【0091】本発明に係る他のバイオセンサの例を図13に示す。このバイオセンサでは、同一の絶縁基板1上に作用極7、対極8が形成され、他の絶縁基板1上に参照極9を形成されている。作用極7および対極8上には結合層4、固定化酵素層10、制限透過層11がこの順で積層している。また参照極9上には結合層4、保護層3がこの順で積層している。

【0092】本発明に係る他のバイオセンサの例を図14に示す。このバイオセンサでは、作用極7、対極8および参照極9が、それぞれ異なる絶縁基板1上に形成されている。作用極7および対極8上には結合層4、固定化酵素層10、制限透過層11がこの順で積層している。また参照極9上には結合層4、保護層3がこの順で積層している。

【0093】以上のように、作用極7、対極8および参照極9は同一基板に設けても異なる基板に設けても良い。

【0094】（第6の実施の形態）本実施形態は、バイオセンサ、電気化学測定回路部、データ処理部、およびデータ報知部を具備した本発明の測定器の一例を示すものである。以下、図6および図7を参照して説明する。

【0095】この測定器は、図6に示すように、バイオセンサ50、電気化学測定回路部51、データ処理部52およびデータ報知部53が、配線54により接続された構成となっている。

【0096】バイオセンサ50は、たとえば、第1から第4の実施形態で説明した参照電極を具備するものを用

いることができる。バイオセンサ50は消耗品であるため、交換が容易な脱着式とすることが好ましい。

【0097】電気化学測定回路部51は、本実施形態ではポテンシオスタットを用いるが、バイオセンサ50に対して定電位を印加し、電流値を測定できる回路であれば、特に限定されない。

【0098】データ処理部52は、図7に示す構成となっており、計時手段60、時刻設定手段61、時刻報知手段62、操作説明手段63、測定値記憶手段64、暗証番号登録手段65、メモ登録手段66、動作報知手段67、校正時期報知手段68、電極交換時期報知手段69、異常電流値報知手段70および校正手段71を含んでいる。上記各手段を含む構成となっているため、本測定器の使用者は、電極の校正、測定、測定データの保存等を円滑に行うことができる。本実施形態では、データ処理部52としてパーソナルコンピュータ（以下、パソコンと記述する）を用いているが、電気化学測定回路部51からの信号を処理できるマイクロプロセッサ等の演算部を持つものであれば特に限定されない。データ処理部52で処理された信号は測定値に換算され、データ報知部53で測定値として表示される。

【0099】データ報知部53は、本実施形態ではパソコン用のディスプレイを用いているが、データ処理部52によって処理されたデータを報知する機能を有するものであれば特に限定されない。データ処理部52によって処理されたデータとは、データ処理部52で算出された測定値、バイオセンサ50の動作確認および誤作動の確認、異常電流値検出結果、バイオセンサ50の交換時期、バイオセンサ50の校正時期および校正手順、日付、時刻、時計、データ処理部52の演算部によって処理された電気化学測定回路部51からの信号、初期設定時の操作手段と操作時に操作アドバイスをを行うときの操作説明等である。報知する手段はデジタル数値、アナログ数値、音声である。これ以外の報知手段として、音、光、振動、色彩、光、図形、熱を利用しても良いが、デジタル数値やアナログ数値が好ましく用いられる。

【0100】配線54はこれらを接続できる電線であればよい。

【0101】次に、データ処理部52に含まれる各手段（図7）について説明する。

【0102】計時手段60は、本実施形態ではパソコンに内蔵されている時計を利用するが、前記演算部に対して、時間を示す機能を有するものであれば、特に限定されない。

【0103】時刻設定手段61は、計時手段60を利用して測定する時刻を設定する機能である。本実施形態では計時手段60と同様にパソコンに内蔵されている時計の機能の一部を利用するが、前記演算部に対して、時間を示す機能にさらに測定する時刻を設定できる機能を有するものであれば、特に限定されない。また、設定でき

る時刻は複数であることが好ましい。このようにすれば、一日に複数回の測定を行いたい場合に便利である。なお時刻設定手段 61 の利用の有無を選択可能になっていると、さらに便利である。

【0104】時刻報知手段 62 は、時刻設定手段 61 で設定された時刻に報知する機能である。例えば時刻設定手段 61 で 12 時間毎に報知するように設定すると、測定者は 12 時間毎に時刻報知手段 62 から測定時刻を知ることが可能になる。

【0105】操作説明手段 63 は、本発明の測定器の操作方法や操作を行う際の留意事項を説明する機能を有する。操作説明手段 63 の利用の有無は、設定により適宜選択できるようになっている。

【0106】測定値記憶手段 64 は、本測定器による測定値やその他の情報を記憶する手段であり、半導体記憶素子として RAM（ランダム・アクセス・メモリ）が好ましく使用される。測定値記憶手段 64 は複数の測定を記憶できるようになっていることが好ましい。測定値記憶手段 64 は、測定値だけでなく、データ処理部 52 において処理される種々の情報も記憶できるようになっている。記憶させる情報は、設定により適宜制限される。

【0107】暗証番号登録手段 65 は、特定人物以外の測定装置の使用と測定値の情報を制限する機能を有しており、これを備えていることにより使用者のプライバシーを保護することが可能となる。暗証番号の設定は 4 桁以上の数値もしくは英数字が、高い安全性を確保できる点で好ましい。また暗証番号登録手段 65 は、複数の暗証番号を登録できるものであることが望ましい。このようにすれば複数の使用者のプライバシーを保護することが可能となる。本実施形態では 4 桁の暗証番号を入力しないと、すべての情報の入出力を行うことができないようになっている。なお、暗証番号登録手段 65 の利用の有無は設定により適宜変更できるようになっている。

【0108】メモ登録手段 66 は、メモを登録できるメモ登録手段と、登録したメモ群を呼び出すメモ項目手段と、呼び出したメモ群から登録したいメモ項目を選択するメモ選択手段と、メモ選択手段で選択したメモを呼び出すメモ呼び出し手段とを備えた構成とすることが好ましい。本実施形態ではこのような構成となっており、測定者の情報として、例えば測定時の体重、血圧、体温をメモ登録手段を用いて登録する。なお、メモ登録手段 66 の利用の有無は、設定により適宜変更できるようになっている。

【0109】動作報知手段 67 は、バイオセンサ 50 と電気化学測定回路部 51 とデータ処理部 52 との間の配線 54 が断線しているか、もしくは少なくとも一つが接続されていない状態となっている場合に、このことを報知する機能を有している。なお、動作報知手段 67 の利用の有無は、設定により適宜変更できるようになっている。

【0110】較正時期報知手段 68 は、バイオセンサ 50 の較正時期を報知する手段である。バイオセンサを一定程度使用すると較正が必要となるが、較正時期報知手段 68 はこの較正時期を報知する機能を有している。較正時期の判断は、測定時間または測定回数を基準に行うことができる。本実施形態では、設定により、これらの両方もしくはいずれか一方を基準とすることができるようになっている。

【0111】電極交換時期報知手段 69 は、バイオセンサ 50 に含まれる電極の交換時期を報知する機能である。交換時期の判断は、測定時間、測定回数、電池の電圧低下等を基準に行うことができる。本実施形態では、設定により、これらの全部もしくはいずれか一つを基準とすることができるようになっている。

【0112】異常電流値報知手段 70 は、バイオセンサ 50、電気化学測定回路部 51、データ処理部 52 およびこれらを接続する配線 54 に異常電流が流れ、測定不能な状態に陥ったり、これらの一部が破損したことを報知する手段である。

【0113】なお、動作報知手段 67、較正時期報知手段 68、電極交換時期報知手段 69、および異常電流値報知手段 70 における「報知」は、たとえば前述したデータ報知部を介して行われ、これにより所定の情報が測定器の使用者に伝達される。

【0114】較正手段 71 は、初期使用時や較正時期において使用されるものであり、バイオセンサ 50 の較正手順を説明するとともにバイオセンサ 50 を較正する機能を有している。較正手順の説明等は、較正時期報知手段 68 を介して行われる。

【0115】本実施形態の測定器を用いると、バイオセンサの使用壽命や較正時期、測定器の操作手順等が表示されるため、装置の取り扱いに不慣れな人でも、高い精度の測定を容易に行うことができる。

【0116】本実施形態では、図 6 に示すように、バイオセンサ 50、電気化学測定回路部 51、データ処理部 52 およびデータ報知部 53 が、配線 54 により接続された構成としたが、電気化学測定回路部 51 を設けずに電気化学測定回路部 51 とデータ報知部 53 が直接に接続した構成とすることもできる。このようにした場合、バイオセンサ 50 から得られたアナログ信号がそのままデータ報知部 53 に送られ、目盛と針を用いた表示方法等により測定値が表示される。この場合、表示された値を尿糖値や血糖値に換算する表等を添付すれば便利である。

【0117】（第 7 の実施の形態）本実施形態は、図 6 の測定器に、更に温度センサ 56、pH センサ 57 を具備した測定器の一例を示すものである。以下、図 8 を参照して説明する。

【0118】この測定器は、図 8 に示すように、バイオセンサ 50 と、電気化学測定回路部 51 と、データ処理

部 5 2 と、データ報知部 5 3 と、温度センサ 5 6 と、pH センサ 5 7 とが配線 5 4 で接続されている。

【0119】データ処理部 5 2 では温度センサ 5 6 と pH センサ 5 7 からの電気信号を処理し、温度および pH を算出する。そして、データ処理部 5 2 において算出される測定試料中の特定成分の測定値が、温度および pH をもとに補正され、データ報知部 5 3 で表示される。

【0120】温度センサ 5 6 は、データ処理部 5 2 で処理できる形式のデータを得ることができるものであれば、特に限定されないが、熱電対温度計や抵抗温度計が好ましい。温度センサ 5 6 は、測定試料の温度または測定環境の温度を測定するものとする。測定試料の温度を測定する場合は、たとえば参照電極を含むバイオセンサの設けられた基板上に温度センサ 5 6 を形成する。このようにすれば測定試料の温度を精度良く測定でき、測定試料中の特定成分の測定にあたって正確に補正を行うことができる。また、バイオセンサと独立した温度センサを備える構成とし、バイオセンサと温度センサ 5 6 を同時に測定試料中に浸漬する方式とすることもできる。このようにすれば、バイオセンサの交換の際に同時に温度センサも交換する必要はなく、低コスト化を図ることができる。測定環境の温度を測定する場合は、バイオセンサと独立した温度センサを備える構成とし、温度センサ 5 6 を測定環境中に設置する。温度センサ 5 6 は、たとえばデータ報知部 5 3 や電気化学測定回路部 5 1 の内部に設置する。このようにすれば、測定環境が、測定可能な温度条件内にあるかどうかを容易にチェックすることが可能となる。

【0121】図 15 はバイオセンサの設けられた基板上に温度センサ 5 6 を形成した測定器の一例を示すものである。この測定器は、絶縁基板 1 上に作用極 7、対極 8、および参照極 9 が形成され、併せて温度センサ 5 6 が設けられている。作用極 7、対極 8、および温度センサ 5 6 の上には、結合層 4、固定化酵素層 10 および制限透過層 11 がこの順で形成されており、参照極 9 上には、結合層 4、保護層 3 が形成されている。このような構成とすれば、温度による測定値の補正を正確に行うことができる。

【0122】pH センサ 5 7 は、ガラス電極やイオン感受性電界効果型トランジスタを好ましく用いることができるが、これらに限定されるものではない。pH センサ 5 7 の較正には、バイオセンサ 5 0 を構成する際に使用する較正液中に pH 指示薬を予め溶解したものを用いることができる。このようにすれば、バイオセンサ 5 0 と pH センサ 5 7 の較正を同時に行うことが可能となる。pH 指示薬は通常のガラス pH メータに使用されているシュウ酸塩溶液やフタル酸塩溶液が好ましい。

【0123】本実施形態の測定器を用いれば、温度範囲および pH 範囲の広い測定試料中の特定成分を正確に測定することが可能になる。測定した測定試料毎の温度、

pH を用いて、バイオセンサの測定値を補正できるからである。

【0124】なお、本実施形態では温度センサ 5 6 および pH センサ 5 7 が、データ処理部 5 2 に接続した構成をとっているが、これらが電気化学測定回路部 5 1 に接続していてもよい。

【0125】(第 8 の実施の形態) 本実施形態は、図 8 の測定器に対し、データ処理部に接続された通信処理部をさらに具備した構成とし、この通信処理部により、データ処理部で得られたデータが、測定器の外部に転送されるようにしたものである。以下、図 9 を参照して説明する。

【0126】本実施形態の測定器は、図 9 に示すように、データ処理部 5 2 と通信処理部 5 8 とが配線 5 4 で接続された構成となっている。通信処理部 5 8 は測定値に関する情報を外部に伝達する手段である。通常モデムが使用されるが、通信処理機能を有するものであれば限定されない。伝達に使用される通信回線として、電話回線、赤外線、無線等が挙げられるが、これらに限定されるものではない。伝達される情報としては、データ処理部 5 2 において処理される情報、データ報知部 5 3 で表示される情報が挙げられる。例えばバイオセンサ 5 0 の電流値、暗証番号、測定時刻、pH、温度、メモ内容、データ処理部 5 2 で算出された測定値、バイオセンサ 5 0 の交換時期、バイオセンサ 5 0 の較正時期、バイオセンサ 5 0 の動作確認および誤作動の確認、異常電流値、データ処理部 5 2 の演算部によって処理された電気化学測定回路部 5 1 からの信号が、通信処理部 5 8 によって測定器の外部に伝達される。伝達先は、通信回線等を通じて接続されたサーバーやコンピュータ等である。なお、伝達される情報は、設定により、適宜選択することができるようになっている。

【0127】本実施形態の測定器を用いれば、在宅で糖尿病患者自身が自分の尿糖を測定し、電話回線を通じて測定結果を病院等の医療機関に送信することが可能になる。その結果、医療機関から食事管理や運動管理等の適切なアドバイスを受けられ、在宅で糖尿病患者の病態管理が可能になる。さらに、バイオセンサの誤作動等のデータも送ることができるため、例えば製造メーカーから装置の修理や保全といったサービスも適宜受けることも可能になる。

【0128】(第 9 の実施の形態) 本実施形態は、図 9 の測定器に、更に印刷部 5 9 を具備した測定器の一例を示すものである。以下、図 10 を参照して説明する。

【0129】本実施形態の測定器は、図 10 に示すように、データ処理部 5 2 と印刷部 5 9 とが配線 5 4 で接続された構成となっている。印刷部 5 9 は、感熱式、熱転写式、ドットインパクト式、インクジェット式、レーザービーム乾式であればよいが、特に限定されない。望ましくは、低コストで構造の簡単な感熱式がよい。印刷部 5

9と接続される配線54は、電線でなくとも、印刷部59を使用しないときの使用形態を考慮して、赤外線を用いてもよい。印刷部59は、データ報知部53に表示されるデータを印刷できればよいが、設定により、印刷するデータを限定することもできる。

【0130】本実施形態の測定器を用いれば、測定値等のデータを紙に印刷して保存しておくことが可能になるだけでなく、糖尿病患者が印刷機能を利用して測定結果をプリントした用紙を病院に持っていき医師に結果を示し、この測定結果を見た医師から適切なアドバイスを受けることが可能になる。

【0131】(第10の実施の形態) 本実施形態は、図10の測定器に、更に外部記憶部55を具備した測定器の一例を示すものである。以下、図11を参照して説明する。

【0132】本実施形態の測定器は、図11に示すように、データ処理部52と外部記憶部55とが配線54で接続された構成となっている。外部記憶部55としては、通常の記憶媒体を用いることができ、フロッピーディスク等の磁気記憶媒体や、メモリーカード等の半導体記憶媒体、および光ディスク等の光記憶媒体が好ましく用いられる。脱着が容易で、低価格で入手できるためである。

【0133】本実施形態の測定器を用いれば、測定したデータを記憶媒体に保存することができるので、使用者は、必要に応じて病院にこの記憶媒体を持参することができる。そして、病院の医師は記憶された測定データを解析し、糖尿病患者等に適切な医療措置を施すことが可能になる。また、大量の測定データを長期間保存することも可能になる。さらに、暗証番号によって管理するため、患者のプライバシーを守ることにも可能になり、一台の装置を複数人で使用することもできる。なお、記憶させる内容は、設定により、適宜選択できるようになっている。

【0134】

【実施例】以下、実施例により本発明をより詳細に説明する。

【0135】(実施例1) まず、10mm×6mmの石英基板上に面積1mm<sup>2</sup>の銀/塩化銀電極を形成したデバイスを、4個製作した。

【0136】次に、これらの銀/塩化銀電極の上に、それぞれ異なる溶液をスピコートして以下の(1)～(4)の参照電極を作製した。

(1) 1v/v%のグルタルアルデヒドを含む22.5w/v%アルブミン溶液をスピコートしてアルブミン層を形成した参照電極

(2) アセトンを用いて2w/v%に調製したアセチルセルロース溶液をスピコートしてアセチルセルロース層を形成した参照電極

(3) パーフルオロヘキサンを用いて0.3重量%に調

整したメタクリル酸樹脂のポリフルオロアルコールエステル溶液をスピコートしてメタクリル酸樹脂のポリフルオロアルコールエステル層を形成した参照電極

(4) キシレンヘキサフロライドを用いて2.0重量%に調整したアクリル酸樹脂のポリフルオロアルコールエステル溶液をスピコートしてアクリル酸樹脂のポリフルオロアルコールエステル層を形成した参照電極  
スピコートの条件は、それぞれ3000rpm、30秒間とした。スピコートによる塗布後、乾燥を行い、保護層を形成した。

【0137】グルタルアルデヒド、アルブミン、キシレンヘキサフロライドおよびアセチルセルロースは和光純薬工業(株)社製、アセトンは関東化学(株)社製のものを用いた。アクリル酸樹脂のポリフルオロアルコールエステルは、ポリアクリル酸1H、1H、2H、2H-パーフルオロデシルを使用した。メタクリル酸樹脂のフルオロアルコールエステルは住友スリーエム社製のフロラード722を使用した。フロラード722は、ポリメタクリル酸1H、1H-パーフルオロオクチルであり、平均分子量(Mn)は約7000程度(GPC測定値)である。希釈液であるパーフルオロヘキサンは、住友スリーエム社製のフロラード726を使用した。

【0138】これら4種類の参照電極は、150mM塩化ナトリウムを含むpH7のTES(エヌ・トリス(ハイドロキシメチル)・メチル・2-アミノエタンサルフォニックアシッド)緩衝液中で自然電位を測定して、連続使用寿命を評価された。得られる自然電位が不安定になるまでの時間を連続使用寿命とした。

【0139】その結果、アルブミン層が形成されている参照電極が約24時間、アセチルセルロース層が形成されている参照電極が約26時間の連続使用寿命であったのに対し、メタクリル酸樹脂のポリフルオロアルコールエステル層が形成されている参照電極は約2000時間以上、アクリル酸樹脂のポリフルオロアルコールエステル層が形成されている参照電極は約2400時間以上の使用寿命を示した。

【0140】(実施例2) まず、10mm×6mmの石英基板上に面積1mm<sup>2</sup>の銀/塩化銀電極を形成したデバイスを、4個製作した。

【0141】次に、これらの銀/塩化銀電極の上に、それぞれ異なる溶液をスピコートして4種類の層を形成し、以下の(1)～(4)の参照電極を作製した。

(1) 1v/v%のグルタルアルデヒドを含む22.5w/v%アルブミン溶液をスピコートしてアルブミン層を形成した参照電極

(2) アセトンを用いて2w/v%に調製したアセチルセルロース溶液をスピコートしてアセチルセルロース層を形成した参照電極

(3) パーフルオロヘキサンを用いて0.3重量%に調整したメタクリル酸樹脂のポリフルオロアルコールエ

10

20

30

40

50

テル溶液をスピコートしてメタクリル酸樹脂のポリフルオロアルコールエステル層を形成した参照電極

【0142】キシレンヘキサフロライドを用いて2.0重量%に調整したアクリル酸樹脂のポリフルオロアルコールエステル溶液をスピコートしてアクリル酸樹脂のポリフルオロアルコールエステル層を形成した参照電極  
スピコートの条件は、それぞれ3000rpm、30秒間とした。

【0142】グルタルアルデヒドは和光純薬工業(株)社製であり、その他の試薬は実施例1と同様である。

【0143】これら4種類の参照電極は、150mM塩化ナトリウムを含むpH7のTES(エヌ・トリス(ハイドロキシメチル)・メチル・2-アミノエタンサルフォニックアシッド)緩衝液中で自然電位を測定して、連続使用寿命を評価された。得られる自然電位が不安定になるまでの時間を連続使用寿命とした。

【0144】その結果、アルブミン層が形成されている参照電極が約38時間、アセチルセルロース層が形成されている参照電極が約48時間の連続使用寿命であったのに対し、メタクリル酸樹脂のポリフルオロアルコールエステル層が形成されている参照電極は約3400時間以上、アクリル酸樹脂のポリフルオロアルコールエステル層が形成されている参照電極も約3400時間以上の使用寿命を示した。

【0145】(実施例3)10mm×6mmの石英基板の上に面積1mm<sup>2</sup>の銀/塩化銀電極を形成した後、その上に、1v/v%のγ-アミノプロピルトリエトキシシラン溶液、さらにその上にパーフルオロヘキサンを用いて0.3重量%に調整したメタクリル酸樹脂のポリフルオロアルコールエステル溶液をスピコートして、メタクリル酸樹脂のポリフルオロアルコールエステル層を形成した参照電極を製作した。スピコートの条件はいずれも3000rpm、30秒間とした。用いた試薬は実施例1と同様である。

【0146】製作した参照電極は、150mM塩化ナトリウムを含むpH7のTES(エヌ・トリス(ハイドロキシメチル)・メチル・2-アミノエタンサルフォニックアシッド)緩衝液中で過酸化水素の電流-電位特性を測定して、得られるピーク電位を評価した。作用極および対極は電極面積が4mm<sup>2</sup>の白金電極とした。また、対照として既存のガラス参照電極(東亜電波工業(株)社製GST-5422S)を用いて同様に評価した。得られた電流-電位特性を図3に示す。図中の0~4mMの数値は、過酸化水素の濃度を示す。

【0147】その結果、本発明による参照電極の過酸化水素に対するピークは約600mV付近に認められ、既存の参照電極は約700mV付近にピークを示した。両者の差である100mVは、ネルンストの式から計算される(-59.16mV/decade、 $E_e = E^0 + (RT/nF) \log a_o/a_r$ )。すなわち、150mMお

よび3.3M塩化カリウムの濃度差の電位とほぼ一致した。また、過酸化水素に対する電流-電位特性は、前述のピークのずれ以外は良く一致した。

【0148】(実施例4)10mm×6mmの石英基板を2枚用意し、それぞれに面積1mm<sup>2</sup>の銀/塩化銀電極を形成した。ついで、その上に1v/v%のγ-アミノプロピルトリエトキシシラン溶液をスピコートした。スピコートの条件は、それぞれ3000rpm、30秒間とした。

10 【0149】次に、これらの上にそれぞれ異なる溶液をスピコートして以下の(1)、(2)の参照電極を製作した。

(1)パーフルオロヘキサンを用いて0.3重量%に調整したメタクリル酸樹脂のポリフルオロアルコールエステル溶液をスピコートしてメタクリル酸樹脂のポリフルオロアルコールエステル層を形成した参照電極

(2)キシレンヘキサフロライドを用いて2.0重量%に調整したアクリル酸樹脂のポリフルオロアルコールエステル溶液をスピコートしてアクリル酸樹脂のポリフルオロアルコールエステル層を形成した参照電極  
スピコートの条件は、それぞれ3000rpm、30秒間とした。用いた試薬は実施例1と同様である。

【0150】上記2種類の参照電極について、150mM塩化ナトリウムを含むpH7のTES(エヌ・トリス(ハイドロキシメチル)・メチル・2-アミノエタンサルフォニックアシッド)緩衝液中で塩素イオン濃度に対する自然電位の減少率を、ネルンストの式である-59.16mV/decadeと比較して評価した。

【0151】その結果、本発明による参照電極の自然電位は、50~500mMの塩素イオン濃度に対してメタクリル酸樹脂のポリフルオロアルコールエステルの参照電極が-59.4mV/decade、アクリル酸樹脂のポリフルオロアルコールエステルの参照電極が-59.0mV/decadeで減少し、ネルンストの式と良く一致した。参照電極として正常に機能していることが示された。

【0152】(実施例5)10mm×6mmの石英基板の上に面積1mm<sup>2</sup>の銀/塩化銀電極を形成したデバイスを6個製作した。

40 【0153】次に、これらの銀/塩化銀電極上に、1v/v%のγ-アミノプロピルトリエトキシシラン溶液をスピコートしてγ-アミノプロピルトリエトキシシラン層を形成し、続いて以下の(1)から(3)の参照電極を製作した。

(1)γ-アミノプロピルトリエトキシシラン層上に、パーフルオロヘキサンを用いて0.3重量%に調整したポリメタクリル酸1H、1H-パーフルオロオクチル溶液をスピコートしてポリメタクリル酸1H、1H-パーフルオロオクチルからなる保護層を形成した参照電

50 極。

(2)  $\gamma$ -アミノプロピルトリエトキシシラン層上に、キシレンヘキサフルオライドを用いて2重量%に調整したポリアクリル酸1H, 1H, 2H, 2H-パーフルオロデシル溶液をスピンコートしてポリアクリル酸1H, 1H, 2H, 2H-パーフルオロデシルからなる保護層を形成した参照電極。

(3)  $\gamma$ -アミノプロピルトリエトキシシラン層上に、キシレンヘキサフルオライドを用いて2重量%に調整したポリアクリル酸1H, 1H, 2H, 2H-パーフルオロデシルと2重量%に調整したポリメタクリル酸シクロヘキシルとの混合溶液をスピンコートして、ポリメタクリル酸シクロヘキシルおよびポリアクリル酸1H, 1H, 2H, 2H-パーフルオロデシルを含む保護層を形成した参照電極。

【0154】スピンコートの条件はすべて3000rpm, 30秒間とした。これら3種類の参照電極は別々に、25℃と50℃で、150mMの塩化ナトリウムを含むpH7のTES(エヌ・トリス(ハイドロキシメチル)・メチル・2-アミノエタンサルフォニックアシッド)緩衝液中で自然電位を測定して、連続使用寿命を評価した。得られる自然電位が不安定になるまでの時間を連続使用寿命とした。

【0155】その結果、ポリメタクリル酸1H, 1H-パーフルオロオクチル層が形成されている参照電極は、25℃で2000時間、50℃で10時間の使用寿命を示した。ポリアクリル酸1H, 1H, 2H, 2H-パーフルオロデシル層が形成されている参照電極は、25℃で2400時間、50℃で1200時間の使用寿命を示した。そして、ポリメタクリル酸シクロヘキシルを含むポリアクリル酸1H, 1H, 2H, 2H-パーフルオロデシル層が形成されている参照電極は、25℃で3000時間、50℃で2800時間の使用寿命を示した。

【0156】(実施例6)本実施例は、図6の構成を有する測定器の一例を示すものである。

【0157】はじめに本実施例に係る測定器のバイオセンサ部の作製手順について説明する。まず10mm×6mmの石英基板上に銀/塩化銀電極(面積1mm<sup>2</sup>)を形成した。つづいて、全面に1v/v%の $\gamma$ -アミノプロピルトリエトキシシラン溶液をスピンコートして結合層を形成した。そしてその上に、キシレンヘキサフルオライドを用いて2重量%に調整したポリアクリル酸1H, 1H, 2H, 2H-パーフルオロデシルと2重量%に調整したポリメタクリル酸シクロヘキシルとの混合溶液をスピンコートして、ポリメタクリル酸シクロヘキシルを含むポリアクリル酸1H, 1H, 2H, 2H-パーフルオロデシル層を形成した参照電極を製作した。スピンコートの条件はすべて3000rpm, 30秒間とした。

【0158】つづいて、参照電極を形成した基板とは別に10mm×6mmの石英基板を用意し、この上に白金からなる作用極(面積7mm<sup>2</sup>)と対極(面積4mm<sup>2</sup>)

を形成した後、全面に1v/v%の $\gamma$ -アミノプロピルトリエトキシシラン溶液をスピンコートして結合層を形成した。その後、56.5U/ $\mu$ lグルコース酸化酵素を含み、かつ1v/v%のグルタルアルデヒドを含む22.5w/v%のアルブミン溶液をスピンコートして固定化酵素層を形成した。そしてその上に1.7重量%のアクリル酸樹脂のポリフルオロアルコールエステル溶液をスピンコートして制限透過層を形成した。アクリル酸樹脂のポリフルオロアルコールエステルは、ポリアクリル酸1H, 1H, 2H, 2H-パーフルオロデシルを使用した。希釈液はキシレンヘキサフルオライドを使用した。スピンコートの条件は3000rpm, 30秒とした。

【0159】以上のようにして電極部を形成したバイオセンサを用い、図6に示す構成の測定器を作製した。電極部分とフレキシブル基板はワイヤーボンディングで結線し、フレキシブル基板と電気化学測定回路部はピンジャック型の電線を用いて接続した。

【0160】電気化学測定回路は、北斗電工社製のポテンシオスタットHOKUTODENKOPOTENTIOSTAT/GALVANOSTATH A150Gを使用した。データ処理装置は、日本電気(株)社製のパーソナルコンピュータPC-9821RaII23を使用した。データ報知部53は、日本電気(株)社製のディスプレイPC-KP531を使用した。電気化学測定回路とデータ処理装置とデータ報知部53とをピンジャック型の電線で接続した。

【0161】続いて、本実施例の測定器の動作について説明する。使用者は、上述のバイオセンサを150mMの塩化ナトリウムを含むpH7の1mM TES(エヌ・トリス(ハイドロキシメチル)・メチル・2-アミノエタンサルフォニックアシッド)緩衝液中に浸漬し、次いで装置の電源を入れた。すると、データ報知部に「時刻を設定します。現在の時刻を入力して下さい。」と表示された。この表示に基づいて使用者がキーを操作して現在の時刻を入力すると、データ報知部に「現在の時刻が入力されました。」と表示された。正確に時刻が入力されないと、再度「時刻を設定します。現在の時刻を入力して下さい。」と表示されるようになっている。こうして、入力された現在の時刻はデータ処理部内に保存される。

【0162】次に、データ報知部に「準備中です。しばらくお待ち下さい。」と表示された。酵素電極から送られてくる電流値が安定すると、データ報知部に「校正を行います。電極を校正液に浸漬して下さい。」と表示された。この表示に基づいて、使用者は、バイオセンサを200mg/dlグルコースの校正液に浸漬して校正を行った。すると、データ報知部に「校正が正常に完了しました。洗浄後、緩衝液に戻して下さい。」と表示された。正常に校正されたか否かはデータ処理部が判断し、その結果がデータ報知部に表示されるようになっている。校正が正常に行われなかった場合は、「校正できません。電極を洗浄し、再度、校正液に浸漬して下さい。」もしくは

「電極が壊れています。交換して下さい。」というメッセージが表示される。校正終了後、使用者は酵素電極を緩衝液に浸漬し、測定の前準備を整えた。校正が終了してから10秒間以上、電極が緩衝液に戻されない場合には、警告音が発生するようになっている。

【0163】 つづいて使用者は、データ報知部に表示された「測定開始」の項目を選択した。するとデータ報知部には、「測定を開始します。電極を尿に浸漬して下さい。」というメッセージが表示された。この表示に基づいて使用者は、電極を尿に浸漬して測定を開始した。測定を開始してから10秒後、データ報知部に「測定が正常に完了しました。尿糖値は〇〇mg/dlです。」と表示された。正常に測定が行われたか否かはデータ処理部が判断し、その結果がデータ報知部に表示されるようになっている。校正が正常に行われなかった場合は、「測定できません。電極を洗浄し、再度、尿に浸漬して下さい。」もしくは「電極が壊れています。交換して下さい。」というメッセージがデータ報知部に表示される。

【0164】 測定完了後、データ報知部に「電極を洗浄し、緩衝液に戻して下さい。」と表示された。測定終了後10秒間以上電極が緩衝液に戻されない場合には、警告音が発生するようになっている。その後、使用者はデータ報知部の「測定終了」の項目を選択し、測定を終了した。

【0165】 本実施例の測定器は、測定すべき時刻を予め設定しておくこともできる。設定した時刻になると、報知音が発生するとともに、データ報知部に「測定を開始します。電極を尿に浸漬して下さい。」というメッセージが表示される。設定時刻は任意に設定でき、複数の時刻を設定できるようになっている。

【0166】 本実施例の測定器におけるデータ処理部への入力に際しては、入力が受け入れられた場合と、入力が受け入れられない場合に、報知音が発せられるようになっている。報知音ではなく報知光を発するようによい。また、バイオセンサ、電気化学測定回路、データ処理装置および電線間に異常電流が生じると、異常電流報知手段によって「異常電流が検出されました。」とデータ報知部に表示される。この表示によって、装置の破損を防ぐことができる。

【0167】 さらに、バイオセンサ、電気化学測定回路、データ処理装置は、いずれもピンジャック型の電線で接続されているため、これらの間において脱着が容易であり、必要に応じて交換が可能である。

【0168】 以上のように本実施例の測定器を用いれば、規則正しい時刻に測定を行うことができ、さらに操作ミスが発生することなく、誰にでも簡単に扱うことが可能になる。

【0169】 (実施例7) 本実施例は、図8に示す構成を有する測定器の一例を示すものである。この測定器は、図6の測定器に対し、さらに、pHセンサおよび温

度センサを付加したものとなっている。

【0170】 温度センサおよびpHセンサとして、それぞれ熱電対方式の温度センサとイオン感応性電界効果型トランジスタ方式のpHセンサを用いた。pHセンサ、温度センサ、電気化学測定回路、データ処理装置、およびデータ報知部は、それぞれ電線により接続した。

【0171】 以下、本実施例の測定器の動作について説明する。使用者はまず酵素電極を150mMの塩化ナトリウムを含むpH7の1mM TES (エヌ・トリス (ハイドロキシル)・メチル・2-アミノエタンサルフォニックアシッド) 緩衝液中に浸漬してから装置の電源を入れた。約1分後、酵素電極のベース電流値が安定化した。この状態で酵素電極を200mg/dlグルコース標準液に浸漬し、酵素電極の校正を行った。このグルコース標準液は、pH指示薬も含まれているため、同時にpHセンサの校正も同時に行うことができる。なお、電極の交換時を除き、酵素電極が接続された状態で装置の電源は切られないようになっている。

【0172】 つづいて使用者はデータ報知部に表示された「測定開始」の項目を選択した。すると「測定を開始します。電極を尿に浸漬して下さい。」というメッセージがデータ報知部に表示された。

【0173】 この表示に基づいて使用者は、被験者として2人の糖尿病患者の尿糖を続けて一回づつ測定した。なお、測定の際にメモ登録手段を利用して、被験者の血圧と体温を同時に入力した。その結果、1人目の患者が酵素電極を尿中に浸漬して10秒後に、データ報知部に「測定が正常に完了しました。尿糖値は80mg/dlです。」と表示され、同時に音声で「測定が正常に完了しました。尿糖値は80mg/dlです。」と表示された。続いて約20秒後、2人目の患者が酵素電極を尿中に浸漬して10秒後に、データ報知部に「測定が正常に完了しました。尿糖値は180mg/dlです。」と表示され、同時に音声で「測定が正常に完了しました。尿糖値は180mg/dlです。」と表示された。この時に既存の臨床検査装置(日立自動分析装置7050、グルコースデヒドロゲナーゼ法)との測定値の比較を行った結果、測定値はほぼ一致し、高い相関を示した。

【0174】 このように本実施例の測定器を用いることにより、2人の尿糖を連続測定することができた。また、視力の衰えた人でも確実に自分の尿糖値を知ることが可能であった。さらにメモ登録手段を利用して入力しておいた体温と血圧を呼び出し、尿糖値と比較することが可能になり、詳細な病態管理が可能になった。また、得られた測定値に対して温度補正とpH補正を行ったため、既存の臨床検査装置に匹敵する高い測定精度の測定を行うことができた。

【0175】 (実施例8) 本実施例は、図9に示す構成を有する測定器の一例を示すものである。この測定器は、図8の測定器に対し、さらに、通信処理部58を付

加したものとなっている。通信処理部 58 は、日本電気(株)社製のモデム・ターミナルアダプタ PC-IT65S1P を使用した。pH センサ、温度センサ、電気化学測定回路、データ処理装置、データ報知部、通信処理部の各部は、いずれも電線により接続した。

【0176】この装置を用いて、1 人の糖尿病患者の尿糖を 30 日間、毎日 2 回(朝食後、夕食後、それぞれ 2 時間後)連続して測定し、測定後のデータを電話回線を利用して逐一、病院に送信した。

【0177】その結果、患者は尿糖の測定時間を遵守し、病院は送られた尿糖値をもとにグラフ化して解析し、適宜患者の病態管理を行うことができた。

【0178】(実施例 9) 本実施例は、図 10 に示す構成を有する測定器の一例を示すものである。この測定器は、図 9 の測定器に対し、さらに、印刷部 59 を付加したものとなっている。印刷部 59 としては、日本電気(株)社製のレーザープリンタ Multiwriter 2000X を使用した。データ処理装置と印刷部はプリンタケーブル PC-CA202 で接続した。以下、本実施例の測定器を用いて測定を行った結果について説明する。

【0179】この装置を用いて、100 人の糖尿病患者の尿糖を連続して測定した。較正は装置を立ち上げたときに一回のみ行った。同じ試料について既存の臨床検査装置を用いた測定も行い、本実施例の測定器および既存の臨床検査装置(日立自動分析装置 7050、グルコースデヒドロゲナーゼ法)の測定結果の比較を行った。その結果、相関係数は 0.96、回帰式は  $Y = 1.09X + 8.8$  となった。本実施例の測定器によれば、臨床検査装置と同等の測定精度が得られることが明らかになった。また、本実施例の測定器を用いた場合の測定時間は、1 サンプル当たり 90 秒程度であり、迅速な測定が可能であった。さらに本実施例の測定器は、印刷部 59 を具備しているため、測定結果が速やかに印刷され、確認を行うことができた。患者は、測定値の印刷されたものを病院に持ち込み、医師からのアドバイスを受けることもできた。

【0180】(実施例 10) 本実施例は、図 11 に示す構成を有する測定器の一例を示すものである。この測定器は、図 10 の測定器に対し、さらに、外部記憶部 55 を付加したものとなっている。外部記憶部として、日本電気(株)社製の 3.5 インチ光ディスクユニット PC-OD302R を使用した。外部記憶装置とデータ処理部とは、電線により接続した。以下、本実施例の測定器の動作について説明する。

【0181】使用者はまず酵素電極を 150mM の塩化ナトリウムを含む pH 7 の 1mM TES (エヌ・トリス(ハイドロキシル)・メチル・2-アミノエタンサルフォニックアシッド)緩衝液中に浸漬してから装置の電源を入れた。約 1 分後、酵素電極のベース電流値が安定化した。この状態で酵素電極を 200mg/dl グルコース標準液に浸漬し、

酵素電極の較正を行った。

【0182】つづいて使用者は、データ報知部に表示された[測定人数の入力]の項目を選択し、[測定人数を入力して下さい。]と表示させた。この表示に基づいて使用者が測定する人数を入力すると、データ報知部に[○人の測定を行います。(はい、Y/いいえ、N)]と表示された。[はい、Y]が選択されると、[○人の測定が可能です。]と表示された。[いいえ、N]であれば、再度、[測定人数入力して下さい。]と表示され、[はい、Y]が選択されるまで上記手順が繰り返される。

【0183】次に使用者は、データ報知部に表示された[暗証番号]の項目を選択し、次いで[暗証番号の登録]を選択した。データ処理部は暗証番号入力ボタンが押されたことを認識して、データ報知部に[暗証番号を登録します。4桁の番号を入力して下さい。]と表示させる。この表示に基づいて使用者がキーを操作して4桁の番号を入力すると、データ報知部に[同じ暗証番号を入力して下さい。]と表示された。使用者が再度同じ番号を入力すると、[暗証番号を受け付けました。]と表示された。暗証番号の登録は測定人分登録される。こうして、登録した暗証番号はデータ処理部内のメモリに保存される。

【0184】次に、データ報知部に[測定を開始します。暗証番号を入力してから、電極を尿に浸漬して下さい。]と表示された。この表示に基づいて使用者は、暗証番号を入力してから、電極を尿に浸漬して測定を開始した。すると、データ報知部に[測定が正常に完了しました。尿糖値は○○mg/dlです。]と表示された。測定が正常に行われなかった場合には、[測定できません。電極を洗浄し、再度、尿に浸漬して下さい。]もしくは[電極が壊れています。交換して下さい。]と表示されるようになっている。また、正しい暗証番号が入力されないと、再度[測定を開始します。暗証番号を入力してから、電極を尿に浸漬して下さい。]と表示される。また、3回連続して暗証番号が一致しないと、前回までの測定データはすべて消去され、初期設定に戻るようになっている。

【0185】測定が正常に完了した後、データ報知部に[電極を洗浄し、緩衝液に戻して下さい。]と表示された。

【0186】次に使用者はデータ報知部の[メモ登録]を選択し、[メモを登録しますか。(はい、Y/いいえ、N)]と表示させた。[Y]を選択すると、[暗証番号を入力して下さい]と表示された。暗証番号を入力してから、メモ内容を入力すると、データ報知部に[メモを登録しますか。(はい、Y/いいえ、N)]と表示された。[Y]を入力し、メモを入力すると、再度[メモを登録しますか。(はい、Y/いいえ、N)]と表示された。使用者は[Y]を入力し、メモの登録を行った。こ

これらの入力をやめるときには [N] を入力すればよい。

また、登録したメモを呼び出したり、修正したり、消去するときには、[暗証番号を入力後、メモ番号を指定して下さい。] と表示される。この表示に基づいて使用者は暗証番号を入力すると、メモを呼び出したり、修正したり、消去することができる。暗証番号が正しく入力されない場合には[暗証番号が一致しません。再度暗証番号を入力して下さい。] と表示される。3回連続して暗証番号が一致しないと、前回までのメモ内容はすべて消去され、初期設定にもどる。

【0187】次に、本実施例の測定器を用いて測定を行った結果について説明する。本実施例の測定器を用いて、2人の糖尿病患者の尿糖を1日2回、一週間、繰り返し測定した。較正は装置を立ち上げたときに一回のみ行った。同じ試料について既存の臨床検査装置(日立自動分析装置7050、グルコースデヒドロゲナーゼ法)を用いた測定も行い、本実施例の測定器および既存の臨床検査装置の測定結果の比較を行った。その結果、相関係数は0.955(n=28)となった。本実施例の測定器によれば、臨床検査装置と同等の測定精度が得られることが明らかになった。また、メモ機能を利用して患者名を入力していたため、測定値のデータを取り違えることも無く、さらに、暗証番号で管理されているため、測定時のプライバシーを守ることでも可能であった。また、測定データを棒グラフで表示することもできた。さらに、データが記憶されている光ディスクは、携帯可能であるため、別のパソコンでデータの管理を行ったり、データの解析を行うこともできた。

#### 【0188】

【発明の効果】以上説明したように、本発明の参照電極およびこれを用いたバイオセンサは、電極上に、特定の構造を有するポリマーから主としてなる保護層を備えているため、以下のような効果を奏する。

【0189】第1の効果は、使用寿命および使用時の安定性が著しく増加することである。これは、電極が保護層で覆われ、電極を構成する金属材料が電解液に溶出すること等が防止されることによる。たとえば、電極を銀/塩化銀電極とした場合、塩化銀の解離や銀イオンの溶出が抑えられる。

【0190】第2の効果は、参照電極表面に汚染物質が付着し難くなり、長期使用した場合にも安定した感度が得られることである。その理由は、汚染物質の付着し難い特定の構造を有するポリマーを主成分とする保護層を備えているためである。

【0191】第3の効果は、参照電極やバイオセンサを従来よりも小型化することができ、また、これらの形状に対する製造上の制約を従来よりも少なくできるということである。その理由は、電極内部に塩化カリウム溶液や、溶液をためておくスペース、溶液の注入口および液絡部等を必要とせず、一定濃度の塩素イオンが存在する

だけで作動するためである。

【0192】第4の効果は、大量に、しかも低コストで生産が可能になることである。その理由は、主たる製造工程が、スパッタリング法等による電極の作製と、スピンコート法による保護層等の形成とからなっており、既存の半導体製造工程の大部分を流用することが可能なためである。

【0193】第5の効果は、参照電極の強度が向上するため、取り扱いが容易になることである。本発明の参照電極表面に形成される保護層は、強度が高く、かつ、電極等との密着性に優れた特定の構造を有するポリマーを主成分とするからである。

【0194】また、本発明のバイオセンサを、尿中のグルコース(尿糖)を測定する尿糖センサとして用いれば、従来のセンサでは不可能であった、尿糖値が正常範囲内にある人や、糖尿病予備軍に該当する人の尿糖を測定することが可能となり、糖尿病の予防に役立つデータ収集が可能となる。

【0195】また、本発明の酵素電極の製造方法は、特定構造のポリマー成分を含む液を塗布・乾燥することにより保護層を形成するため、繰り返し測定時における安定性、隣接する層との密着性、耐久性等にすぐれる保護層を、膜厚制御性良く形成することができる。

#### 【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の参照電極の一例を示す断面図である。

【図2】本発明の参照電極の一例を示す断面図である。

【図3】本発明の参照電極の特性を示す図である。

【図4】従来技術のバイオセンサ(尿糖センサ)の正面図および断面図である。

【図5】本発明のバイオセンサ(尿糖センサ)の概略構造を示す図である。

【図6】本発明の測定器の構成の一例を示す図である。

【図7】本発明の測定器に含まれるデータ処理部の構成の一例を示す図である。

【図8】本発明の測定器の構成の一例を示す図である。

【図9】本発明の測定器の構成の一例を示す図である。

【図10】本発明の測定器の構成の一例を示す図である。

【図11】本発明の測定器の構成の一例を示す図である。

【図12】本発明のバイオセンサの構成の一例を示す図である。

【図13】本発明のバイオセンサの構成の一例を示す図である。

【図14】本発明のバイオセンサの構成の一例を示す図である。

【図15】本発明のバイオセンサの構成の一例を示す図である。

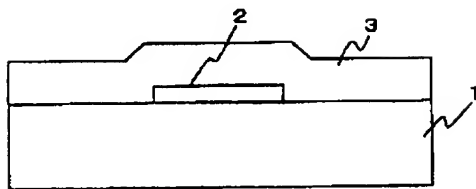
#### 【符号の説明】

1 絶縁基板

- 2 電極
- 3 保護層
- 4 結合層
- 8 対極
- 9 参照極
- 10 固定化酵素層
- 11 制限透過層
- 40 アノード電極
- 41 開口
- 42B リード線
- 43 カソード電極
- 48A パッド
- 48B パッド
- 49 ガラス基板
- 50 バイオセンサ
- 51 電気化学測定回路部
- 52 データ処理部
- 53 データ報知部
- 54 配線
- 55 外部記憶部

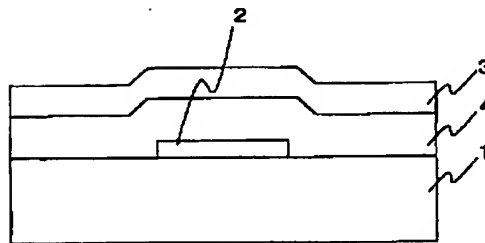
- 56 温度センサ
- 57 pHセンサ
- 58 通信処理部
- 60 計時手段
- 61 時刻設定手段
- 62 時刻報知手段
- 63 操作説明手段
- 64 測定値記憶手段
- 65 暗証番号登録手段
- 10 66 メモ登録手段
- 67 動作報知手段
- 68 校正時期報知手段
- 69 電極交換時期報知手段
- 70 異常電流値報知手段
- 71 校正手段
- P11 ポリイミド層
- P12 ポリイミド層
- K カソード膜
- M アノード膜
- 20 S 銀層

【図 1】



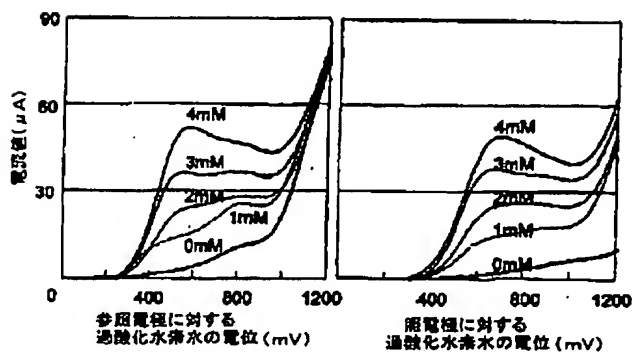
1 絶縁基板  
2 電極  
3 保護層

【図 2】



1 絶縁基板  
2 電極  
3 保護層  
4 結合層

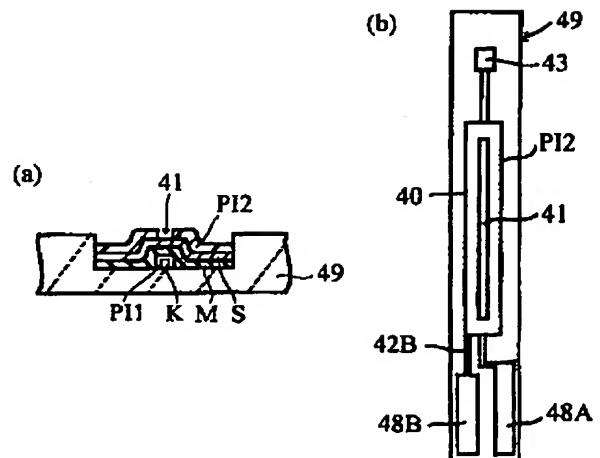
【図 3】



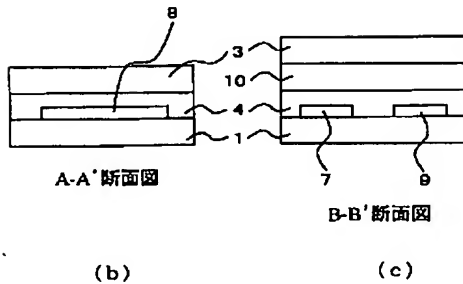
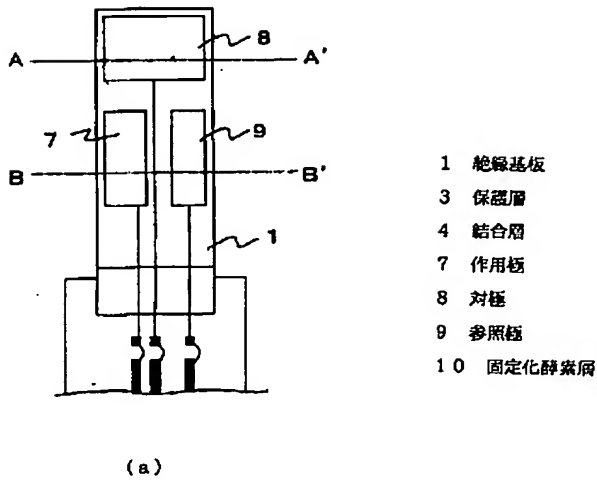
(a) 本発明の 血糖電極

(b) 従来の 血糖電極

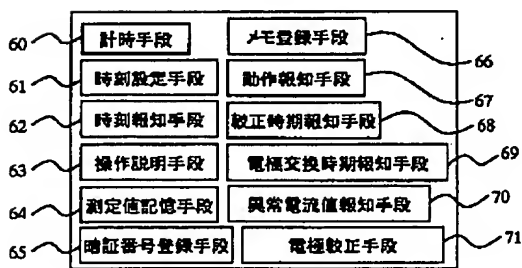
【図 4】



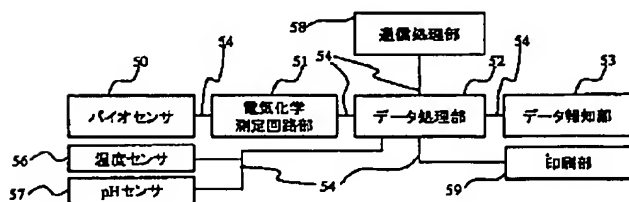
【図 5】



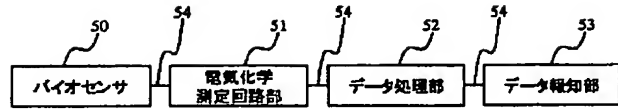
【図 7】



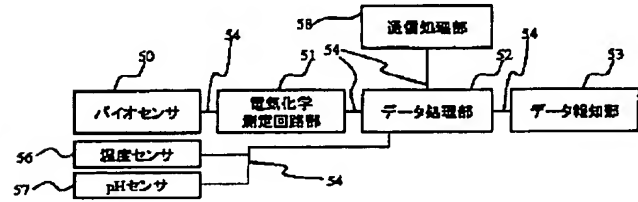
【図 10】



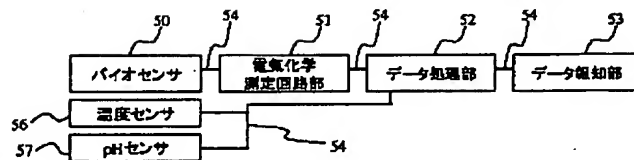
【図 6】



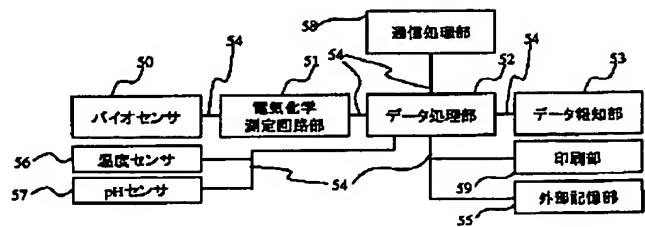
【図 9】



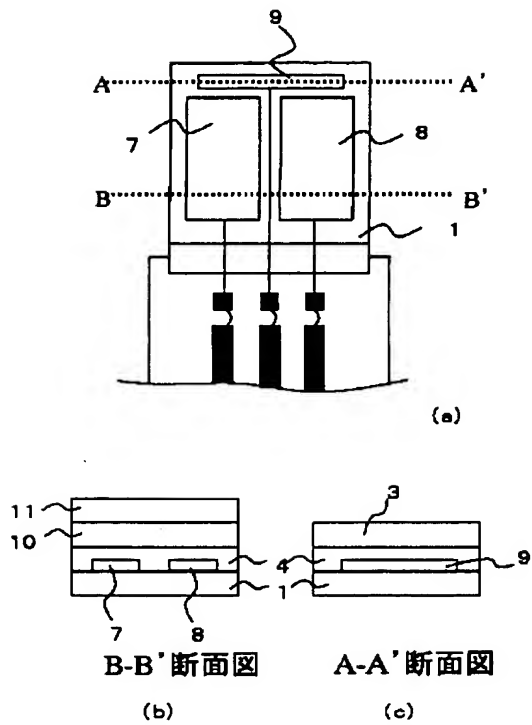
【図 8】



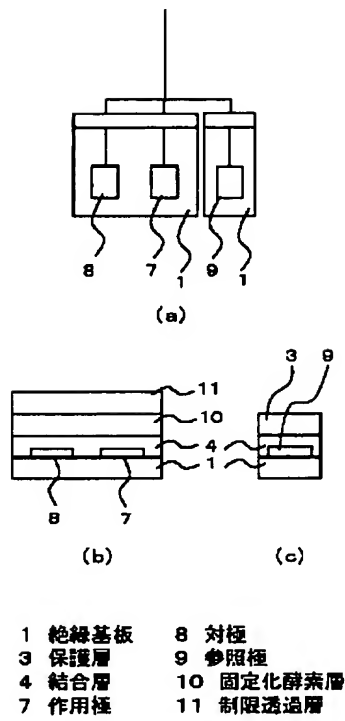
【図 11】



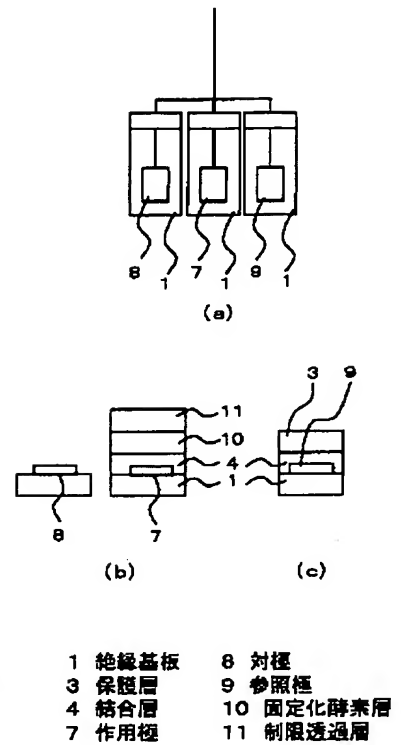
【図 12】



【図 13】



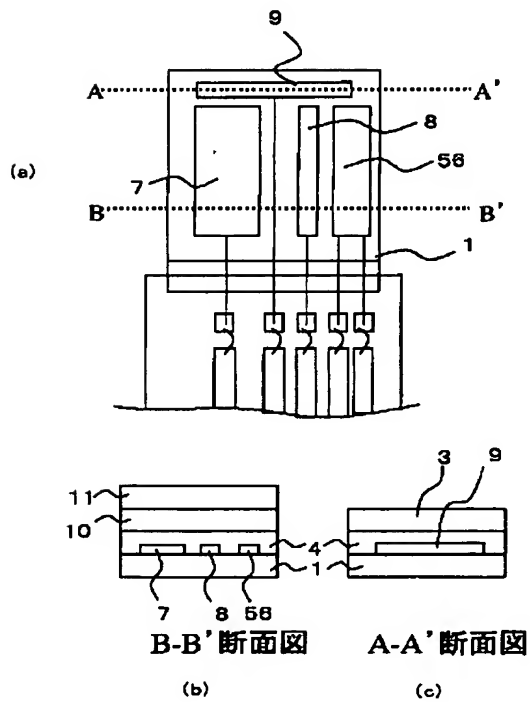
【図 14】



1 絶縁基板  
3 保護層  
4 結合層  
7 作用極  
8 対極  
9 参照極  
10 固定化酵素層  
11 制限透過層

1 絶縁基板  
3 保護層  
4 結合層  
7 作用極  
8 対極  
9 参照極  
10 固定化酵素層  
11 制限透過層

【図 15】



フロントページの続き

(51) Int. Cl. <sup>7</sup>G 0 1 N 27/27  
27/416

識別記号

F I

G 0 1 N 27/30

27/46

テーマコード\* (参考)

3 5 3 J

3 5 3 U

B

3 3 6 C